Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, **F. Hofmeister**-Straßburg i. Els., **C. v. Noorden**-Frankfurt a. M., **E. Salkowski**-Berlin, **F. Tangl**-Budapest, **A. von Wassermann**-Berlin, **N. Zuntz**-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **J. Bang**-Lund, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **R. Kobert**-Rostock, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Berlin, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **F. Röhmann**-Breslau, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

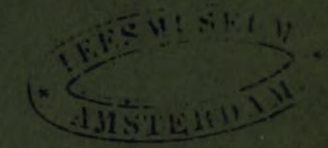
Vierundsiebzigster Band.

1916.



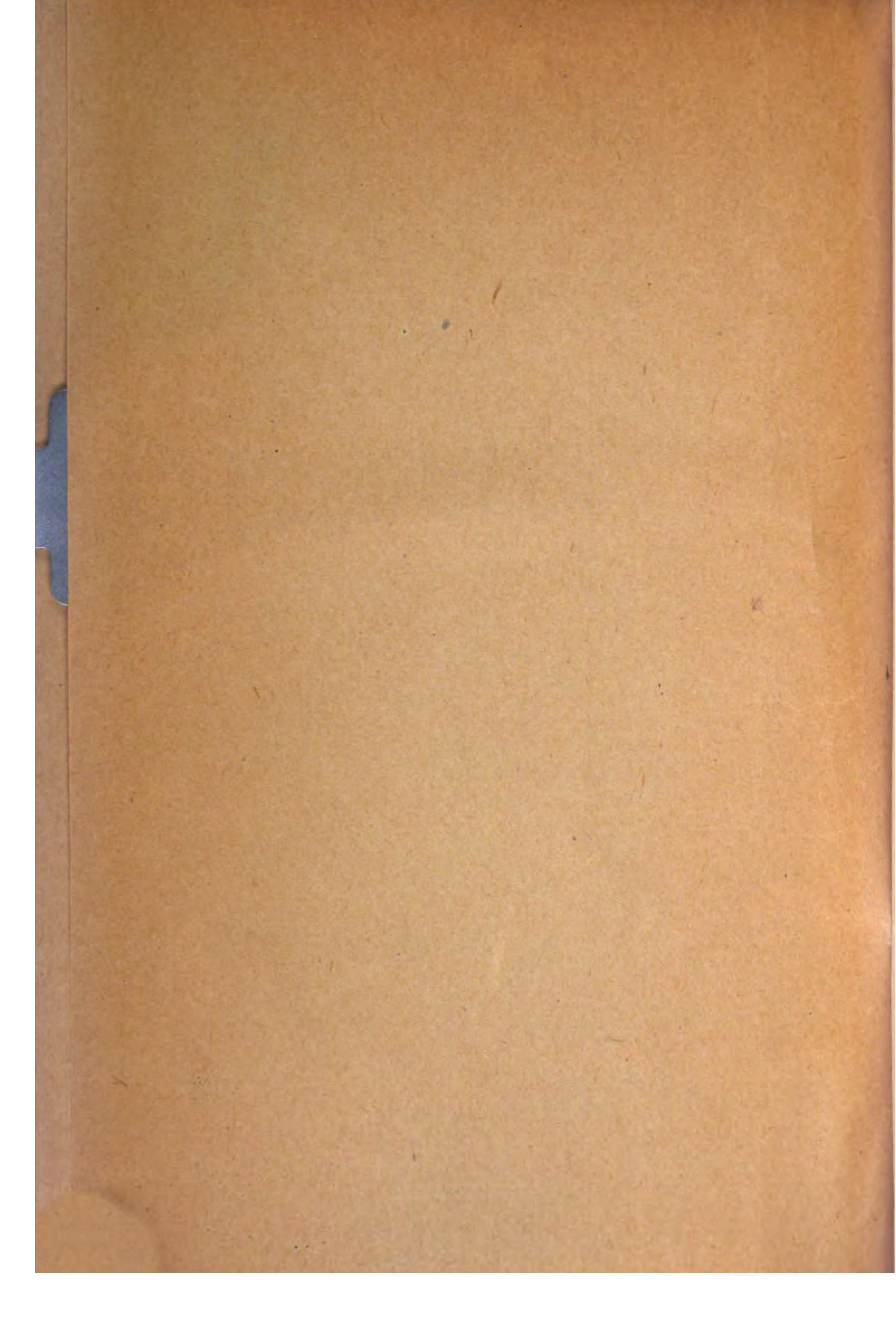
Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1916.








F.G.KOSTER BOEKBINDER
AMSTERDAM



Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. v. Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, O. Warburg-Berlin, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Vierundsiebzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1916.

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Chem

Inhaltsverzeichnis.

Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas. IV.

Von

K. A. Hasselbalch und J. Lindhard.

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 31. Dezember 1915.)

Mit 1 Figur im Text.

Im Laufe unserer Höhenklimaforschungen machten wir[1]), gelegentlich eines 26 tägigen Kabinettversuches, wobei die Versuchsperson sich 7 Tage bei 760 mm, 14 Tage bei 455 mm Totaldruck aufhielt, die Beobachtung, daß in der sauerstoffarmen Atmosphäre die Ammoniakproduktion des Organismus um rund 25 $^0/_0$ erniedrigt war.

Wir messen diesem Befund ein außerordentliches Interesse bei. Wenn nämlich die Sauerstoffarmut des Höhenklimas einen „acidotischen" Zustand erzeugt, der sich durch die niedrige Lage der Blutkohlensäurespannung kundgibt und dadurch zugleich (annäherungsweise) kompensiert wird (und eine solche Auffassung kommt uns, wie wir schon hervorhoben[2]), wohlbegründet vor, wenn man unter „Acidose" nur die relative Bicarbonatarmut des Blutes versteht), so handelt es sich jedenfalls nicht um eine Acidose, die auf eine übermäßige Erzeugung saurer Stoffwechselprodukte beruht. Denn bei einer Acidose dieser Art würde man mit allem Recht eine kompensierende Mehrproduktion von Ammoniak erwarten, nach der Analogie der experimentellen Säurevergiftung und der diabetischen Acidose.

Eher könnte man eine bisher nicht aufgestellte Form von „Acidose" vermuten, die durch eine primäre Unterproduktion der endogenen, für die Neutralitätsregulation so

[1]) III. Mitt., diese Zeitschr. 68, 1915.

[2]) II. Mitt., diese Zeitschr. 68, 293 und 294, 1915.

wichtigen Base, des Ammoniaks, bezeichnet und darin begründet wäre.

In der Art und Weise, in der sich bei der zitierten Untersuchung die Erniedrigung der Ammoniakproduktion und die der alveolaren CO_2-Spannung gegenseitig verhielten, ist eine Berechtigung der hier skizzierten Auffassung angedeutet. Nach dem Anfang der Druckreduktion verliefen nämlich nur 3 Tage, bevor das neue, um ca. 25% niedrigere Niveau der Ammoniakproduktion erreicht wurde, dagegen mindestens 6, vielleicht sogar 12 Tage, bevor die allmählich absinkende alveolare CO_2-Spannung ihre endgültige Erniedrigung (um 25 bis 30%) erlitten hatte.

Es scheint uns demnach nicht unberechtigt, anzunehmen, daß die O_2-Armut primärerweise die NH_3-Produktion beschränkt, und daß die Blutkohlensäurespannung dem neuen Säure-Basen-Gleichgewicht erst sekundär akkommodiert wird: bei verminderter Zufuhr zum Blute von OH-Ionen vermehrte Ausfuhr von H-Ionen durch die verstärkte Atmung. Das Zweckmäßige dieser letzteren Anpassungsstufe ist oft hervorgehoben worden: die Herabsetzung der CO_2-Spannung des Blutes wird durch die ausgiebigere Lüftung des Blutes erreicht, dabei wird aber die O_2-Spannung des Blutes erhöht und dem O_2-Mangel der Gewebe teilweise abgeholfen.

Es war nun notwendig, die Beweiskraft dieses allein dastehenden Befundes einer Erniedrigung der NH_3-Produktion bei O_2-Mangel an der Hand eines größeren Versuchsmaterials womöglich zu verstärken. Dies ist die Hauptaufgabe dieser Abhandlung. Zur weiteren Stütze unserer Theorie schien es uns demnächst angebracht, die NH_3-Produktion und die alveolare CO_2-Spannung bei Erhöhung des O_2-Druckes der Atmosphäre zu untersuchen. Obschon bei 760 mm Totaldruck — 100 mm O_2-Druck im arteriellen Blute — die Sättigung des Hämoglobins mit Sauerstoff bekanntlich beinahe total ist (93 bis 94%), so daß die zu erwartenden Ausschläge notwendigerweise klein sein mußten, kam uns die Aufgabe theoretisch so wichtig vor, daß wir vor ihrer anscheinenden Aussichtslosigkeit nicht zurückwichen.

Einen in dieser Verbindung nur nebensächlichen Wert messen wir den Aufschlüssen über die Pulsfrequenz und die

Größe des respiratorischen Ruhestoffwechsels bei, die wir bei diesen wie bei allen bisherigen Luftkammerversuchen den morgendlichen Atmungsversuchen entnahmen.

Betreffs unserer Methodik verweisen wir auf die zitierten Abhandlungen. Bemerkt sei nur, daß der p_H im Tagesharn hier bei Zimmertemperatur bestimmt wurde.

Die wichtigsten Versuchsergebnisse sind im Anhang tabellarisch verzeichnet; hier beschränken wir uns auf die Besprechung der Durchschnittswerte und verweisen nur gelegentlich auf Einzelbestimmungen der Tabellen.

A. Ammoniak und p_H im Harne, alveolare CO_2-Spannung bei variiertem O_2-Druck der Atmosphäre.

Will man die Fähigkeit des Organismus, Ammoniak zu erzeugen, richtig abschätzen, muß man die Gesamtumsetzung von Stickstoff berücksichtigen. Besonders bei freier Nahrungswahl, wie in unseren Versuchen, d. h. bei wechselndem N-Gehalt der Nahrung, sind natürlich nicht die absoluten, sondern nur die relativen Ammoniakwerte von Belang. Das Verhältnis zwischen dem als NH_3 ausgeschiedenem Stickstoff, N_a, und der totalen Stickstoffmenge im Harne, N_t, mit 100 multipliziert, $\frac{100 \cdot N_a}{N_t}$, wird von uns der Kürze halber die Ammoniakzahl genannt.

Um aber die Größe der Ammoniakzahl richtig zu beurteilen, muß man, was uns erst recht bei dieser Gelegenheit klar wurde, die aktuelle Reaktion des Harns mit heranziehen. Das geht mit aller Schärfe aus dem jetzt zu besprechenden Versuch 1 hervor.

Im Versuch 1 (K. A. H., siehe das Versuchsprotokoll im Anhang) waren die durchschnittlichen Werte in den verschiedenen Perioden:

Übersichtstabelle I.

	Alv. CO_2 mm	Ammoniakzahl	p_H im Harne
8 Tage bei ca. 760 mm . . .	41,0	3,6 (3,1—4,1)	6,12
3 „ „ „ 495 „ . . .	32,8	2,9 (2,7—3,1)	6,45
8 „ „ „ 760 „ . . .	41,3[1]	3,7 (3,0—4,9)	5,88
4 „ „ „ 1050 „ . . .	45,5	3,8 (3,1—4,2)	5,93
4 „ „ „ 760 „ . . .	42,1	4,1 (3,2—5,0)	5,77

[1]) Nur für die 4 letzten Tage berechnet.

Betrachten wir die alveolaren CO_2-Spannungen, so zeigt sich erstens der wohlbekannte erniedrigende Einfluß der sauerstoffarmen Atmosphäre. Nach früheren Untersuchungen[1]) sollte bei dem Totaldruck des dritten Tages der Druckreduktion, 484 mm, K. A. H. eine alveolare CO_2-Spannung von nicht 32,5 mm, sondern nur 30,4 mm haben, falls volle Akkommodation eingetreten wäre. Dies war aber auch nicht der Fall: das deutlich ausgeprägte Bild der Bergkrankheit tritt aus den knappen „Bemerkungen“ des Versuchsprotokolls scharf hervor.

Zu Anfang der jetzt folgenden Zwischenperiode mit Normaldruck finden wir, wie fast immer, als Nachwirkung der Sauerstoffarmut eine allmählich schwindende Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung (37,8; 39,6; 39,2; 40,1). Während der letzten 4 Tage der Periode ist die alveolare CO_2-Spannung wieder normal, 41,3 mm.

Was aber besonders interessant ist, und was man, soviel wir wissen, noch niemals beobachtet hat, ist die ganz unzweifelhafte Erhöhung der alveolaren CO_2-Spannung bei vermehrtem Totaldruck, 45,5 gegen 41,3 mm. Der Einfluß des steigenden O_2-Druckes auf die Spannung der Blutkohlensäure ist demnach, jedenfalls bei dieser Versuchsperson, nicht bei 760 mm Totaldruck abgeschlossen, wie es speziell Miß Fitzgerald[2]) ausdrücklich, obschon nur vermutungsweise, ausgesprochen hat, sondern setzt sich, in zwar abnehmender Stärke, weiter fort, wie es die beistehenden abgerundeten Zahlen, K. A. H. betreffend, veranschaulichen:

Bar. mm	Alv. CO_2 mm	Diff.
450	29	—
750	41	12
1050	45	4

Bei erhöhtem Totaldruck scheint, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Sauerstoffmangel, die Akklimatisation eine relativ schnelle, wenn auch keineswegs augenblickliche, zu sein. Am Morgen des 20. II. (siehe Versuchsprotokoll) war bei 766 mm Totaldruck die alveolare CO_2-Spannung 42,1; nach 6 Stunden

[1]) Diese Zeitschr. 68, 277, 1915.

[2]) Phil. Transact. Roy. Soc., London, Serie B, 203, 1912.

bei 1050 mm war sie 43,4 mm[1]) und am nächsten Morgen 45,4 mm, was die bleibende Erhöhung darstellt.

Während der Nachperiode bei Normaldruck erscheint die alveolare CO_2-Spannung wieder normal oder vielleicht (Nachwirkung?) ein bißchen erhöht: im Durchschnitt 42,1 mm; das neue Niveau wird sofort am ersten Morgen (d. h. jedenfalls innerhalb 24 Stunden) erreicht, indem die alveolare CO_2-Spannung 41,7 mm beträgt (siehe Versuchsprotokoll).

Was nun die Ammoniakzahlen (Übersichtstabelle I) betrifft, so sind die Versuchsergebnisse keineswegs so leicht zu deuten. Es könnte zwar den Anschein haben, als ob bei Sauerstoffarmut die Ammoniakzahl erniedrigt sei: 2,9 gegen 3,6, wogegen der erhöhte Luftdruck entschieden keine beweisende Erhöhung der Ammoniakzahl bewirkt hat. Erstens ist aber die Variabilität der isolierten Funktion während der Vorperiode so groß (3,1 bis 4,1), daß die Erniedrigung bis zu 2,9 (2,7 bis 3,1) nicht überzeugend erscheint. Zweitens kommt dazu der Umstand, daß die Ammoniakzahl des Harns nur in Verbindung mit der aktuellen Reaktion desselben richtig verwertet werden kann.

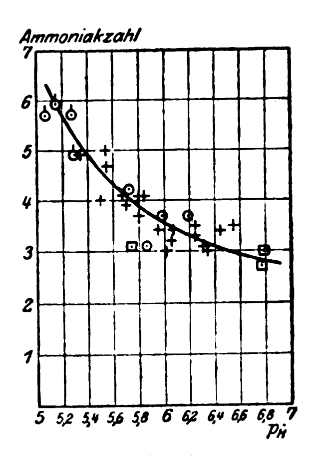


Fig. 1.
K. A. H. Tagesharn.
p_H- und Ammoniakzahl.

+ Normaldruck, Mischdiät.
ȯ „ Fleischfettdiät.
□ Bar. 40,5 mm, Mischdiät.
⊙ „ 1050 „ „

Daß dem so ist, geht aus der beistehenden graphischen Darstellung der Versuchsergebnisse hervor[2]) (Fig. 1). Die Ammoniakzahl ist zweifelsohne eine Funktion der p_H im Harne in dem Sinne, daß niedriger p_H, d. h. saure Reaktion, und hohe Ammoniak-

---

[1]) Nicht im Versuchsprotokoll angezeichnet.

[2]) Die Kurve ist durch einige Bestimmungen aus einer kohlenhydratfreien Periode, die wir der Arbeit von Hasselbalch und Gammeltoft (diese Zeitschr. 68, 263, 1915) entnommen haben, nach der sauren Seite hin verlängert worden.

zahl einander entsprechen, ebenso wie hoher p_H. und niedrige Ammoniakzahl.

Der eine von uns (H.) hat in einer folgenden Arbeit die exakte Bestimmung dieser Funktion unternommen. Hier genügt vorläufig die Beobachtung, daß dieselbe Kurve, die durch die Einzelbestimmungen der Normalperiode gezeichnet werden kann, auch für 2 der 3 Ammoniakzahlen der Unterdruckperiode zutrifft. Mit anderen Worten: der Sauerstoffmangel hat am ersten und am dritten Tage, d. h. an den Bergkrankheitstagen (siehe Protokoll) die Absonderung eines relativ alkalischen und entsprechend ammoniakarmen Harns bewirkt. Vielleicht oder sogar wahrscheinlich (s. u.) würde eine längere Versuchsdauer verursacht haben, daß die Ammoniakzahl immer niedrig geblieben wäre, der p_H. aber nach und nach normale Werte angenommen hätte. In dieser Richtung deuten die Werte des zweiten Tages dieser Periode, wo das Befinden der Versuchsperson fast normal war: bei p_H. 5,77 Ammoniakzahl 3,1, während die Normalbestimmungen (Fig. 1) bei dieser Reaktion des Harns eine Ammoniakzahl von etwa 3,9 erwarten lassen (siehe auch den Versuch 3).

Bei dem 26 tägigen Versuch mit J. L.[1]) war die Versuchsdauer so reichlich bemessen, daß bei der Deutung der Versuchsergebnisse keine entsprechende Schwierigkeit verspürt wurde.

	Ammoniakzahl	p_H.
7 Tage bei 760 m	4,4	5,06
14 „ „ 455 m	3,3	5,03

Hier ist die Reaktion des Harns während der beiden Perioden praktisch dieselbe, so daß die Erniedrigung der Ammoniakzahl der Unterdruckperiode beweisend ist. Hätten wir uns hier mit einer Untersuchung des einen Tages, da J. L. entschieden bergkrank war[2]), begnügt, so hätten wir (wie im Versuch 1) nur bei abnorm hohem p_H. (5,81) die niedrige Ammoniakzahl (2,9) gefunden. Auch bei unseren beiden anderen Versuchspersonen (s. u.) findet sich zu Anfang der Druckreduktion dasselbe Merkmal einer nicht vollzogenen Akklimatisierung: niedrige Ammoniakzahl bei hohem p_H. Erst die allmählich

[1]) Diese Zeitschr. 68, 305, 1915.
[2]) Am 9. VI., l. c.

sich einstellende Kombination: niedrige Ammoniakzahl bei normalem p_H ist also, dem Obenstehenden zufolge, für die reelle Erniedrigung der Ammoniakzahl beweisend.

Das wirkliche Ergebnis von Versuch 1 ist demnach: **Bei reduziertem Luftdruck war die alveolare CO_2-Spannung wie gewöhnlich erniedrigt, die Ammoniakzahl aber — wahrscheinlich wegen der zu kurzen Versuchsdauer — nur andeutungsweise erniedigt. Bei erhöhtem Luftdruck ging die alveolare CO_2-Spannung deutlich hinauf, die Ammoniakzahl blieb praktisch ungeändert.**

Der Versuch 2 mit J. L. umfaßt eine 4tägige Vorperiode bei Normaldruck, eine ebenso lange Periode mit Überdruck, und 2 Tage hinterher mit Normaldruck. Wir erinnern daran, daß J. L. es war, der bei dem 26tägigen Versuch mit Unterdruck so eklatante Ausschläge, sowohl die alveolare CO_2-Spannung als auch die Ammoniakzahl betreffend, aufwies. Die Ergebnisse bei Versuch 2 sind, kurz zusammengefaßt, wie folgt:

Übersichtstabelle II.

	Alv. CO_2 mm	Ammoniakzahl	p_H
4 Tage bei ca. 745 mm . . .	35,7	3,7 (3,4—4,4)	5,68
4 „ „ „ 1060 „ . . .	38,3[1])	4,6 (4,4—4,9)	5,38
2 „ „ „ 755 „ . . .	35,8[2])	4,4[2])	5,37[2])

Auch hier ist die erhöhende Wirkung des O_2-Überschusses auf die alveolare CO_2-Spannung unzweideutig: 38,3 gegen 35,7, Erhöhung um 2,6 mm. Am ersten Tag der Überdruckperiode ist die Wirkung noch nicht da: 35,3, dann folgen 37,9, 38,2, 38,4. Während der kleinen Nachperiode hat es den Anschein, als ob am ersten Tage eine Nachwirkung bestehe: 37,5, dann erst am zweiten Tage 35,8.

Die Ammoniakzahlen der Überdruckperiode sind zwar gegen die der Vorperiode deutlich erhöht, da aber zugleich die Harn-

---

[1]) Nur für die zwei letzten Tage berechnet.

[2]) Nur den zweiten Tag betreffend.

reaktion saurer geworden ist, darf man (s. o.) nichts Sicheres daraus folgern. Auch hier muß zugegeben werden, daß erst eine längere Versuchsdauer entscheidende Ergebnisse hätte liefern können. Doch ist die Neigung zu höheren Ammoniakzahlen bei O_2-Überschuß unverkennbar.

Versuch 3 wurde mit 2 Personen, V. M. und C. A. L., unternommen. Der Versuch umfaßt 5 Perioden von je 5 Tagen, nämlich der Reihe nach: 1. bei Normaldruck, 2. bei ca. 490 mm, 3. bei Normaldruck, 4. bei ca. 1085 mm, 5. bei Normaldruck.

Die Durchschnittszahlen für V. M. sind:

Übersichtstabelle IIIa.

	Alv. CO_2 mm	Ammoniakzahl	p_H
5 Tage bei ca. 745 mm . . .	**38,3**	**6,7** (6,3—7,4)	5,92
5 „ „ „ 490 „ . . .	**29,9**	**4,5** (4,1—4,9)	**6,03**
5 „ „ „ 760 „ . . .	**36,2**	**6,5** (6,2—6,8)	5,77
5 „ „ „ 1085 „ . . .	**41,1**	**7,0** (6,6—7,6)	5,97
5 „ „ „ 750 „ . . .	**37,9**	**5,8** (5,4—6,1)	5,82

Bei der Durchschnittsberechnung sind für alle Perioden außer der Vorperiode die Zahlen der zwei ersten Tage weggelassen. Wir heben ausdrücklich hervor, daß wir uns nicht vorstellen, daß dabei in allen Fällen akklimatisierte Werte erreicht worden sind; im Gegenteil, besonders die Unterdruckperiode war für die volle Akklimatisierung entschieden zu kurz, was die fortgesetzte Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung bezeugt (siehe Versuchsprotokoll). Auch die darauf folgende Periode bei Normaldruck war insofern zu kurz, als die Nachwirkungen des Sauerstoffmangels sogar am letzten Tage derselben noch bemerkbar sind: die normale alveolare CO_2-Spannung ist noch nicht erreicht worden usw. Wir beabsichtigen bei dieser Berechnung nur die Nachwirkungen der vorangehenden Perioden möglichst abzustumpfen, um dabei die erzielten Wirkungen um so reiner hervortreten zu lassen.

Von den früher gemachten Erfahrungen belehrt, stellten wir diesen Versuch in solcher Weise an, daß die gestellten Fragen eine unzweideutige Beantwortung erhalten haben. Die

alveolare CO_2-Spannung geht, wie immer, dem experimentell variierten Sauerstoffdruck parallel; nur waren, wie schon bemerkt, die Versuchsperioden 2 und 3 zu kurz, um den endgültigen Stand der CO_2-Spannung erreichen zu lassen. Die Erhöhung der alveolaren CO_2-Spannung bei 1085 mm beträgt hier ungefähr 3 mm.

Die einzelnen Versuchsperioden waren dagegen reichlich genug bemessen, um die Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Ammoniakzahlen zu beseitigen. Die Harnreaktion der drei letzten Tage war nämlich (siehe Übersichtstabelle IIIa) für alle Perioden beinahe dieselbe, jedenfalls sind die Unterschiede derartig beschaffen, daß sie bei der Schlußfolgerung nicht störend wirken. Es ergibt sich ein durchgehender Parallelismus zwischen den Bewegungen der alveolaren CO_2-Spannung und denen der Ammoniakzahl. Bei 490 mm Totaldruck ist die Ammoniakproduktion mit ungefähr 25 % gegen die Norm herabgesetzt. Eine Durchmusterung der Einzelergebnisse (siehe Versuchsprotokoll) lehrt uns, daß während der beiden Bergkrankheitstage diese Erniedrigung nur durch eine enorme Erhöhung der p_H im Harne, also in nicht beweisender Weise, eingetreten ist, ganz wie es mit J. L. und K. A. H. der Fall war. Es fällt demnächst auf, daß, wie bei dem langen Versuch mit J. L., die beweisende Erniedrigung der Ammoniakzahl zeitlich primär im Verhältnis zur Erniedrigung der CO_2-Spannung erscheint; die letztere setzt sich fort, nachdem das bleibende Niveau der Ammoniakzahl (und des p_H) erreicht worden ist.

Die Erhöhung der Ammoniakzahl während der Überdruckperiode kommt zwar etwas bescheiden vor, 7,0 gegen 6,5 und 5,8 für die beiden den Versuch umrahmenden Perioden. Erstens sind aber, wie eingangs betont wurde, die zu erwartenden Ausschläge klein, zweitens wird die wirkliche Erhöhung der Ammoniakzahl etwas größer ausfallen, weil gleichzeitig der p_H im Harne größer ist als für die beiden Vergleichsperioden, 5,97 gegen 5,77 und 5,82.

Für C. A. L. (siehe die S. 10 stehende Übersichtstabelle IIIb, die in genau derselben Weise berechnet worden ist wie IIIa) wurde qualitativ dasselbe Versuchsergebnis wie für V. M. festgestellt, so daß wir uns eine Wiederholung ersparen können.

Übersichtstabelle IIIb.

	Alv. CO_2 mm	Ammoniakzahl	p_H.
5 Tage bei ca. 745 mm . . .	34,5	5,4 (4,9—6,0)	5,76
5 " " " 490 " . . .	27,1	3,7 (3,3—4,2)	5,87
5 " " " 760 " . . .	34,5	5,6 (5,1—6,1)	5,75
5 " " " 1085 " . . .	35,4	5,6 (5,1—6,1)	5,85
5 " " " 750 " . . .	34,3	5,6 (4,7—6,2)	5,72

Die niedrige Lage der alveolaren CO_2-Spannung ist für diese Person eigentümlich und wurde auch später oft konstatiert. Die Erhöhung der CO_2-Spannung bei 1085 mm Totaldruck ist sehr klein, nur um 1 mm, doch unzweifelhaft reell (siehe im Versuchsprotokoll die ständige Erhöhung von Tag zu Tag und die Nachwirkung am ersten Tage der folgenden Periode). Eine entsprechende kleine Erhöhung der Ammoniakzahl ist nur indirekt zu ersehen, indem gleichzeitig der Harn einen etwas größeren p_H darbietet; in Betracht der recht großen Variabilität der beiden Funktionen ist die Realität einer derartig berechneten Erhöhung natürlich etwas fraglich. So viel darf doch wieder hier behauptet werden, daß eine Neigung zu höheren Ammoniakzahlen bei O_2-Überschuß unverkennbar ist.

C. A. L., der während der ersten Tage der Druckreduktion nur andeutungsweise bergkrank war, bietet dementsprechend nur andeutungsweise den für die Bergkrankheit charakteristischen Symptomkomplex dar: nur am zweiten Tage findet man bei relativ wenig erhöhtem p_H 6,21 gegen 5,76 während der Vorperiode, fast dieselbe niedrige Ammoniakzahl, 3,6, wie durchschnittlich in der ganzen Periode, 3,7.

Wenn wir nun als Hauptergebnis dieser Untersuchungen feststellen müssen, daß bei hinreichend langer Versuchsdauer Sauerstoffmangel und Sauerstoffüberschuß parallele Änderungen der Blutkohlensäurespannung und der Ammoniakzahl im Harn auslösen, so bleibt noch die Frage, ob diese beiden Wirkungen des geänderten O_2-Druckes assoziierte Vorkommnisse sind, oder ob, wie wir es vermuteten, das primäre Vorkommnis die geänderte Größe der Ammoniakproduktion, und das sekundäre die geänderte CO_2-Spannung des Blutes ist. Einerseits zeigen die Versuche mit J. L., V. M. und C. A. L. übereinstimmend,

daß bei O_2-Mangel das neue, niedrige Niveau der Ammoniakproduktion lange vor der endgültigen Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung erreicht worden ist. Andererseits zeichnen sich die Bergkrankheitstage (siehe besonders K. A. H. und V. M.) durch die folgende Kombination aus: beginnende Erniedrigung der CO_2-Spannung, Erniedrigung der Ammoniakzahl, aber bei so alkalischer Harnreaktion, daß schon dadurch die niedrige Ammoniakzahl erklärt werden kann.

Ob es sich hier um eine vorläufige, krankhafte Mehrausscheidung von anderen Basen des Blutes handelt (vgl. die immer auffallend alkalische Harnreaktion, die im Laufe der Tage allmählich normal wird), wissen wir nicht. In diesem Falle würde dann die Bergkrankheit eine Form von „Acidose“ darstellen, die auf einer übermäßigen Ausscheidung von Basen beruht, während die heilbringende „Acidose“ des akklimatisierten Zustandes durch die zweckmäßigere Minderproduktion von Ammoniak bedingt ist.

B. Respiratorischer Stoffwechsel und Pulsfrequenz bei variiertem O_2-Druck der Atmosphäre.

Aus 8 früheren Versuchen[1]) mit den drei auch hier benutzten

Übersichtstabelle IV.

Versuchsperson		O_2-Verbrauch pro Minute ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Bemerkungen
K. A. H.	8 Tage bei ca. 760 mm	261 (253—274)	0,79 (0,76—0,82)	
	3 " " " 495 "	316; 301; 288	0,69; 0,71; 0,73	Cyanose, Kopfschmerzen.
V. M.	5 Tage bei ca. 745 mm	265 (262—270)	0,80 (0,77—0,83)	
	5 " " " 490 "	317; 318; 284; 268; 277	0,74; 0,73; 0,76; 0,77; 0,78	Kopfschmerzen, Übelkeit während der ersten 2 bis 3 Tage.
C. A. L.	5 Tage bei ca. 745 mm	265 (249—274)	0,80 (0,78—0,81)	
	5 " " " 490 "	273; 272; 266; 284	0,78; 0,78; 0,80; 0,80	Fast vollkommen normal.

---

[1]) II. und III. Mitt., diese Zeitschr. 68, 1915.

Versuchspersonen K. A. H., J. L. und V. M. folgerten wir, daß die reine Sauerstoffarmut für die Größe des O_2-Verbrauchs ohne Bedeutung ist, daß aber anstrengende Muskelarbeit am Tage vorher besonders bei O_2-Armut den morgendlichen Ruhestoffwechsel deutlich vergrößert. Wir waren geneigt, hierin den Hauptgrund davon zu erblicken, daß frühere Untersucher fast einstimmig einen größeren Sauerstoffverbrauch im Höhenklima als in der Ebene konstatiert haben. Doch ging aus den erwähnten Versuchen sehr klar hervor, daß auch die Bergkrankheit an und für sich den Sauerstoffverbrauch erhöht[1]), was wir damals mit der Schlaflosigkeit und dem im ganzen ruhelosen Zustand, d. h. mit einer unwillkürlich größeren Muskelaktivität, in Verbindung setzten.

Die bei dieser Gelegenheit ausgeführten Versuche bestätigen, wie es die Übersichtstabelle IV zeigt, den früher gewonnenen Eindruck, daß die Sauerstoffarmut, nur wenn Bergkrankheit ausgelöst wird (in den Fällen K. A. H. und V. M.), den Grundumsatz erhöht.

Wie diese stoffwechselerhöhende Wirkung der Bergkrankheit zustande kommt, wissen wir nicht. Sie zeigt sich auch in Fällen, wo, wie hier während des Sauerstoffmangels, keine nennenswerte Muskelarbeit geleistet worden ist, und an Tagen, wo der vorangehende Nachtschlaf fast ungestört war, und sie schwindet mit den ersten stürmischen Symptomen der Bergkrankheit. Gleichzeitig nähert sich auch der respiratorische Quotient, der sofort tief gegen oder bis an die Werte der reinen Fettverbrennung absinkt, wieder der Norm.

Der erhöhte O_2-Druck ändert in allen 4 Fällen, wie zu erwarten war, nichts an der Größe des respiratorischen Stoffwechsels (siehe Versuchsprotokoll).

Die Übersichtstabelle V erläutert den Einfluß des O_2-Druckes auf die Pulsfrequenz (Selbstzählung am Morgen im Bette). Die Reihenfolge der Zahlen, von oben nach unten gelesen, ist chronologisch und ununterbrochen, so daß man in den Einzelfällen sowohl Anpassung als auch Nachwirkungen ablesen kann.

Die Sauerstoffarmut bewirkt, in Übereinstimmung mit

---

[1]) l. c. S. 281.

Übersichtstabelle V.

Pulsfrequenz.

Luftdruck	K. A. H.	J. L.	V. M.	C. A. L.
Normal	59		—	—
	58		—	—
	59		63	64
	59		59	63
	58		54	60
	59		52	62
	59		56	61
Ca. 500 mm	72		103	68
	76		96	69
			76	65
			74	65
			67	68
Normal	52		54	60
	55		51	59
	—		50	58
	60		53	61
	60		52	62
	59	56		
	62	54		
	64	58		
Ca. 1070 mm . . .	57	54	43	48
	58	52	48	63
	59	56	47	68
	60	60	52	58
			49	63
Normal	63	59	53	55
	61	54	57	59
	61		53	61
	59		57	58
			54	62

früheren Erfahrungen, in allen 3 Fällen eine Einstellung auf eine etwas höhere Pulsfrequenz; bei V. M., der während der ersten 3 Tage bergkrank war, geschieht diese Einstellung durch eine gewaltige, allmählich abklingende Erhöhung der Frequenz. Bei C. A. L., der nicht bergkrank war, wird das höhere Niveau sofort eingenommen.

Die Nachperiode bei Normaldruck zeigt in allen Fällen, besonders langdauernd bei dem bergkrank gewesenen V. M., eine Nachwirkung mit abnorm niedrigen Pulsfrequenzen.

Der erhöhte Luftdruck ergibt bei den 3 Personen eine in 1 bis 3 Tagen vorübergehende Erniedrigung der Frequenz; bei dem in dieser Hinsicht offenbar relativ empfindlichen V. M.

dauert die Wirkung die ganze 5 tägige Periode hindurch. Die Wirkungsgröße ist fast von derselben Ordnung wie nach kurzdauernder Atmung von reinem Sauerstoff.

Im großen und ganzen darf man behaupten, daß die Pulsfrequenz und die Größe des respiratorischen Stoffwechsels oft zusammen, prinzipiell aber unabhängig von einander variieren. Das höhere Niveau der Pulsfrequenz während des an Sauerstoffarmut akklimatisierten Zustandes ist von keiner Erhöhung des Stoffwechsels begleitet (siehe auch J. L. bei dem 14 tägigen Aufenthalt bei 455 mm[1]), und die niedrige Pulsfrequenz bei erhöhtem O_2-Druck trifft mit keiner Erniedrigung des Stoffwechsels zusammen. Nur während der Anpassungszeit, sowohl zu Anfang einer Unterdruckperiode wie nach einer solchen bei Normaldruck, ist eine Andeutung von Parallelismus vorhanden (V. M. siehe Versuchsprotokoll).

Zusammenfassung der Hauptergebnisse.

Als Bestätigung einer früheren Beobachtung wurde bei 2 anderen Versuchspersonen eine Herabsetzung der Ammoniakproduktion bei Sauerstoffarmut der Atmosphäre gefunden.

Höchstwahrscheinlich ist die Höhenklima-„Acidose“ u. a. durch diese Unterproduktion der endogenen Base, des Ammoniaks, bedingt.

Bei Kontrollversuchen mit erhöhtem Sauerstoffdruck von einer Dauer von mehreren Tagen wurde bei 4 Versuchspersonen die alveolare CO_2-Spannung und in 1 (3?) Fall auch die Ammoniakproduktion gesteigert gefunden.

Die Ammoniakproduktion kann nur in Verbindung mit der aktuellen Reaktion des Harns richtig beurteilt werden, indem normalerweise die Ammoniakproduktion mit steigendem p_H im Harne abnimmt. Eben diese Kombination wird immer gefunden, wenn Bergkrankheit vorhanden ist; erst mit eintretender Akklimatisation wird der p_H des Harns normal, während die Ammoniakproduktion herabgesetzt bleibt.

---

[1]) III. Mitt., l. c. S. 320.

Die Größe des respiratorischen Stoffwechsels ist von dem Sauerstoffdruck unbeeinflußt; nur solange Bergkrankheit besteht, findet man eine Erhöhung des Grundumsatzes, die mit eintretender Akklimatisation schwindet.

Die Änderungen der Pulsfrequenz mit variiertem Sauerstoffdruck verlaufen unabhängig von den Änderungen des respiratorischen Stoffwechsels.

Versuchsprotokoll.

Versuch 1.

K. A. H., 40 Jahre, Gewicht 79 kg, Höhe 181 cm. 4. XI. bis 30. XI. 1914. Zimmertemp. ca. 19°.

Datum	Bar.	Puls	O_2-Verbr. pro Min. ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm	Diurese	N_t g	N_a g	$\frac{100\ N_a}{N_t}$	p_H im Harne	Bemerkungen
4. XI.	760	—	265	0,77	41,2	—	—	—	—	—	Während dieser Periode außerhalb der Luftkammer, mit Arbeiten im Laboratorium beschäftigt.
5.	762	59	274	0,79	40,2	1320	13,9	0,43	3,1	6,31	
6.	764	58	258	0,78	39,9	1200	15,9	0,52	3,3	6,24	
7.	764	59	258	0,79	40,7	1050	15,4	0,58	3,7	5,80	
8.	762	59	263	0,81	41,2	1340	15,3	0,62	4,1	5,80	
9.	761	58	260	0,82	41,9	1130	15,1	0,61	4,1	5,68	
10.	757	59	253	0,78	42,5	1640	12,7	0,43	3,4	6,44	
11.	754	59	255	0,76	40,3	1430	12,4	0,44	3,5	6,57	In die Kammer um 10^{00} vormittags. Druckreduktion beendigt um 12^{00} mittags.
12.	496	72	316	0,69	33,3	1570	10,9	0,29	2,7	6,78	Cyanose, Kopfschmerzen.
13.	502	76	301	0,71	32,8	850	12,8	0,40	3,1	5,77	Relatives Wohlbefinden.
14.	484	—	288	0,73	32,5	1660	14,2	0,43	3,0	6,79	Schlaflos, gewaltige Kopfschmerzen. Druckaufgang.
15.	747	52	268	0,80	37,8	1170	12,8	0,51	4,0	5,49	Wieder außerhalb der Kammer.
16.	748	55	263	0,80	39,6	955	13,5	0,40	3,0	6,02	
17.	760	—	271	0,80	39,2	1460	15,8	0,54	3,4	6,08	
18.	770	60	261	0,83	40,1	1910	14,5	0,60	4,1	5,84	
19.	770	60	262	0,80	40,6	1195	13,0	0,64	4,9	5,34	
20.	771	59	264	0,79	41,3	1035	14,3	0,56	3,9	5,69	
21.	765	62	285	0,79	41,3	1515	14,2	0,50	3,5	6,24	
22.	766	64	272	0,79	42,1	2060	16,1	0,49	3,0	6,32	In die Kammer um 10^{00} vormittags. Druckaufgang um 11^{00} vormittags beendigt.
23.	1053	57	268	0,79	45,4	1340	14,0	0,52	3,7	5,98	Wohlbefinden.
24.	1045	53	270	0,77	44,9	1490	14,3	0,60	4,2	5,71	desgl.
25.	1046	59	271	0,76	46,6	1090	15,0	0,46	3,1	5,86	desgl.
26.	1050	60	275	0,76	45,1	1305	14,9	0,54	3,7	6,19	Druckreduktion, von 9^{00} vorm. Normaldruck.
27.	758	63	263	0,73	41,7	1350	12,0	0,56	4,7	5,54	Außerhalb der Kammer.
28.	760	61	274	0,74	42,3	1230	12,0	0,60	5,0	5,53	
29.	756	61	280	0,77	42,0	1380	13,5	0,43	3,2	6,07	
30.	757	59	278	0,78	42,6	920	12,8	0,44	3,4	5,95	

Versuch 2.

J. L., 44 Jahre, Gewicht 63 kg, Höhe 173 cm. 4. XII. bis 13. XII. 1914.
Zimmertemp. ca. 18°.

Datum	Bar.	Puls	O_2-Verbr. pro Min. ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm	Diurese	N_t g	N_a g	$\frac{100\ N_a}{N_t}$	p_H. im Harne	Bemerkungen
4. XII.	759	—	250	0,77	37,4	1850	14,2	0,58	4,1	5,85	Außerhalb der Kammer.
5.	747	56	236	0,77	35,8	1480	11,8	0,52	4,4	5,60	
6.	741	54	231	0,80	34,5	1170	14,8	0,50	3,4	5,81	
7.	743	58	241	0,76	35,0	990	15,1	0,59	3,9	5,44	Druckaufgang um 10⁰⁰ vormittags beendigt.
8.	1055	54	256	0,78	35,3	1115	13,8	0,68	4,9	5,26	
9.	1065	52	243	0,78	37,9	1030	14,0	0,62	4,5	5,53	
10.	1059	56	232	0,77	38,2	1600	15,9	0,71	4,5	5,40	
11.	1065	60	231	0,78	38,4	1020	16,4	0,72	4,4	5,31	Druckreduktion um 10⁰⁰ vormittags beendigt.
12.	757	59	227	0,82	37,5	1070	13,9	0,70	5,0	5,10	Außerhalb der Kammer.
13.	750	54	241	0,77	35,8	940	13,3	0,58	4,4	5,37	

Versuch 3a.

V. M., 23 Jahre, Höhe 173 cm. 8. I. bis 1. II. 1915.
Zimmertemp. ca. 18°
In der Luftkammer während des ganzen Versuchs.

Datum	Bar.	Puls	O_2-Verbr. pro Min. ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm	Diurese	N_t g	N_a g	$\frac{100\ N_a}{N_t}$	p_H. im Harne	Bemerkungen
8. I.	732	63	270	0,77	38,1	980	13,0	0,83	6,3	5,55	Gewicht 67,6 kg.
9.	745	59	264	0,78	38,2	1650	12,1	0,89	7,4	5,81	
10.	745	54	263	0,81	38,9	1800	12,3	0,83	6,8	5,99	
11.	746	52	262	0,83	38,7	1600	12,9	0,82	6,4	5,89	
12.	743	56	266	0,81	37,8	1580	13,4	0,92	6,9	6,36	Gew. 69,9 kg. Druckreduktion um 12⁰⁰ mittags beendigt.
13.	504	103	317	0,73	32,5	1840	12,0	0,53	4,4	6,89	Kopfschmerz, Übelkeit, gestörter Schlaf.
14.	498	96	318	0,73	31,2	1410	7,3	0,30	4,0	7,26	Ebenso, Schlaf besser.
15.	488	76	284	0,76	30,2	1280	13,1	0,54	4,1	6,21	Appetitmangel, sonst normal.
16.	488	74	268	0,77	29,9	1360	12,3	0,60	4,9	6,12	
17.	501	67	277	0,79	29,5	1420	12,9	0,59	4,6	5,75	Druckaufgang um 9⁰⁰ vormittags beendigt. Gewicht 67,6 kg.
18.	759	54	251	0,85	32,6	690	11,9	0,64	5,4	5,55	
19.	770	51	249	0,90	35,4	1015	12,3	0,73	6,6	5,47	
20.	764	50	255	0,84	35,4	1520	12,0	0,80	6,6	5,63	
21.	751	53	244	0,86	36,1	1660	10,6	0,72	6,8	5,84	
22.	744	52	247	0,85	37,2	1570	11,0	0,67	6,2	5,85	Gew. 68,4 kg. Druckaufgang um 8³⁰ vormittags beendigt.
23.	1083	43	254	0,83	38,2	1605	13,3	0,76	5,8	6,19	
24.	1086	48	256	0,85	39,5	1325	13,8	0,81	5,9	5,88	
25.	1087	47	267	0,89	41,0	2090	14,3	0,94	6,6	6,20	
26.	1085	52	257	0,88	41,8	1790	13,6	0,97	6,8	5,69	
27.	1089	49	271	0,91	40,6	1810	13,2	1,00	7,6	6,03	Gewicht 70,5 kg. Druckreduktion um 9⁰⁰ vormittags beendigt.
28.	752	53	271	0,89	38,0	1845	15,5	0,86	5,6	6,30	
29.	741	57	275	0,88	38,0	1920	15,8	0,77	4,9	6,34	
30.	749	53	256	0,88	37,9	1670	15,9	0,97	6,1	5,79	
31.	750	57	268	0,89	37,8	1570	13,1	0,79	6,0	5,64	
1. II.	757	54	282	0,84	38,0	1580	13,5	0,73	5,4	6,03	Gewicht 70,7 kg.

Versuch 3b.

C. A. L., 21 Jahre, Höhe 181 cm.
Versuchsbedingungen siehe 3a.

Datum	Bar.	Puls	O_2-Verbr. pro Min. ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Alv. CO_2 mm	Diurese	N_t g	N_a g	$\frac{100\ N_a}{N_t}$	p_H im Harne	Bemerkungen
8. I.	732	64	265	0,79	33,3	960	14,9	0,73	4,9	5,70	Gewicht 68,0 kg.
9.	745	63	274	0,81	34,0	1000	15,7	0,79	5,0	5,97	
10.	745	60	249	0,78	34,9	940	13,7	0,78	5,7	5,57	
11.	746	62	270	0,80	36,0	1020	14,1	0,80	5,7	5,60	
12.	743	61	269	0,80	34,3	985	13,2	0,79	6,0	5,95	Gewicht 69,0 kg.
13.	504	68	273	0,78	29,8	1320	13,4	0,60	4,5	5,83	Andeutung von Kopfschmerz gestern abend, fühlt sich jetzt und fortwährend ganz normal.
14.	498	69	272	0,78	28,3	810	12,8	0,47	3,6	6,21	
15.	488	65	—	—	27,1	810	13,1	0,43	3,3	6,02	
16.	488	65	266	0,80	27,4	1025	13,3	0,49	3,7	5,95	
17.	501	68	284	0,80	26,9	1000	13,0	0,54	4,2	5,64	Gewicht 68,3 kg.
18.	759	60	273	0,81	32,0	1000	14,1	0,64	4,5	5,51	
19.	770	59	254	0,82	32,2	815	11,2	0,67	6,0	5,38	
20.	764	58	258	0,83	34,0	970	11,9	0,66	5,6	5,66	
21.	751	61	263	0,84	34,5	925	10,5	0,65	6,2	5,64	
22.	744	62	273	0,83	35,1	870	11,9	0,61	5,1	5,94	Gewicht 69,7 kg.
23.	1083	48	273	0,81	34,1	1140	13,3	0,60	4,5	6,17	
24.	1086	63	276	0,80	33,9	1020	13,5	0,63	4,7	5,83	
25.	1087	68	287	0,83	34,6	1025	12,7	0,65	5,1	6,16	
26.	1085	58	270	0,84	35,0	1040	13,6	0,75	5,5	5,63	
27.	1089	63	294	0,82	36,5	1270	13,8	0,84	6,1	5,76	Gewicht 70,8 kg.
28.	752	55	287	0,82	36,8	1490	15,9	0,79	4,9	6,05	
29.	741	59	280	0,83	35,0	1465	15,3	0,72	4,7	6,00	
30.	749	61	292	0,84	33,3	1360	15,0	0,71	4,7	5,88	
31.	750	58	280	0,83	34,3	1160	11,6	0,72	6,2	5,52	
1. II.	757	62	293	0,83	35,3	735	10,0	0,60	6,0	5,77	Gewicht 70,8 kg.

Ammoniak als physiologischer Neutralitätsregulator.

Von

K. A. Hasselbalch.

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 3. Januar 1916.)

Mit 10 Figuren im Text.

Unter den physiologischen Regulationsmechanismen, die die normale Reaktion der Körpersäfte und -gewebe sichern, wird die Ammoniakproduktion der Fleischfresser und Omnivoren allgemein anerkannt, nur ist die Bedeutung, die man von verschiedenen Seiten eben dieser regulatorischen Vorrichtung beimißt, auffallend abweichend.

Bekanntlich gibt es mindestens zwei andere physiologische Vorrichtungen, die ebenfalls im Dienste der Neutralitätsregulation stehen. Erstens die selektive Säureabsonderung der Nieren. Indem aus dem leicht alkalischen Rohmaterial, dem Blute, die Nieren ein saures Produkt, den Harn, liefern, werden aus dem Körper fortwährend (und, wie man annimmt, in geregelter Weise) Wasserstoffionen entfernt. Zweitens kennt man seit Jahren die für den Organismus so wichtige Regulation durch die Atmung. Wenn beispielsweise dem Blute viel Säure zugeführt wird und dadurch äquivalente Basenmengen mit Beschlag belegt und ausgeführt werden, so verarmt das Blut an Alkalien und somit auch an Natrium. Bei der bestehenden aktuellen Reaktion des Blutes ist die Kohlensäureverbindung des Natriums ausschließlich als Bicarbonat vorhanden. Soll nun die ursprüngliche $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes behauptet werden, so kann das bei der herabgesetzten Konzentration des Natriumcarbonats nur geschehen, wenn gleichzeitig die CO_2-Spannung des Blutes in demselben Verhältnis herabgesetzt wird (Hen-

derson). Nehmen wir die CO_2-Produktion des Körpers als unverändert an, so kann des weiteren die CO_2-Spannung des Blutes nur dadurch erniedrigt werden, daß die Lüftung desselben, die Lungenventilation, in eben demselben Verhältnis erhöht wird, denn die CO_2-Produktion geht als Produkt dieser beiden Größen hervor.

Die verstärkte Atmung, die vermehrte Lüftung des Blutes, die demnach ein bedeutungsvolles Glied des neuen Gleichgewichts des Systems darstellt, bringt, jedenfalls beim Menschen[1]), die ursprüngliche $C_{H^{\cdot}}$ des Blutes (fast) vollkommen zurück. Von einer „Acidose" im buchstäblichen Sinne des Wortes ist demnach keine Rede. Doch scheint es zweckmäßig, auch mit Rücksicht auf die untenstehenden Erörterungen, den Namen beizubehalten, indem mit „Acidose" ein Zustand gemeint wird, wo Salze organischer Säuren in ungewöhnlicher Menge im Blute zirkulieren. Über die aktuelle Reaktion des Blutes besagt das Wort nichts.

In dem Maße, wie hier dargestellt, besteht wohl heutzutage unter den Physiologen eine experimentell erhärtete Einigkeit. Über die neutralitätsregulierende Rolle aber, die man beim Fleischfresser der Ammoniakproduktion zuschreiben muß scheinen die Ansichten weit auseinander zu gehen. Sofern ich die betreffende Literatur beherrsche, finden sich bei Michaelis und bei Münzer die extremen Standpunkte mit Bezug auf die Bedeutung des Ammoniaks für die Neutralitätsregulation. Michaelis[2]) erkennt als neutralitätsregulierende Vorrichtung in der Norm nur die Lungen und die Nieren; er betrachtet die kleine physiologische Ammoniakproduktion als eine Art Schlackenbildung, die nur pathologisch verwertet wird. „Als wichtige Unterstützung der Regulation kommt in pathologischen Fällen von Säurebildung noch ein ganz anderer Mechanismus hinzu, der auf einer chemischen Entartung des Stoffwechsels beruht. Es wird an Stelle des Harnstoffs teilweise

[1]) Beim hungernden Kaninchen sicherlich nicht. (Siehe Hasselbalch, diese Zeitschr. **46**, 426, 1912.)

[2]) Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914, S. 94, 98.

Ammoniak produziert, das die abnorm gebildeten Säuren neutralisiert"[1]).

Münzer[2]) auf der anderen Seite erkennt, daß bei langdauernder exzessiver Säuerung des Organismus (bei Diabetes) dessen Vorrat an Kohlensäurebindern beeinträchtigt werden, und daß dadurch die CO_2-Spannung des Blutes absinken kann; er bezweifelt aber, daß dabei die Atmung beteiligt sei[3]). Aus Versuchen mit Menschen, die bis 10 Tage lang beträchtliche Mengen von Salzsäure zu sich nahmen und die infolgedessen eine stark vermehrte Ammoniakproduktion, aber absolut keine Herabsetzung der alv. CO_2-Spannung aufwiesen, folgert Münzer, daß eingeführte und wahrscheinlich auch endogene Säuren zunächst durch Ammoniak neutralisiert werden, „eine Änderung der CO_2-Spannung des venösen Blutes tritt hierbei zunächst nicht ein".

Münzer fügt hinzu[4]): „und so kann die Kohlensäurespannung auch nicht als Maß der Acidosis dienen".

Die Berechtigung dieser Kritik hängt von der benutzten Definition ab. Spricht man mit Henderson erst von einer „Acidose", wenn die übermäßige Säurezufuhr zum Blute eine Verarmung des Blutes an fixen Alkalien (besonders $NaHCO_3$) herbeigeführt hat, so kann wirklich mit gewissem Vorbehalt (s. u.) die Erniedrigung der alv. CO_2-Spannung als Maß der Acidose dienen. Ich bin — aus anderswo zu erörternden Gründen — kein Anhänger dieser Definitionsweise.

Münzer polemisiert gegen die Benutzung der alv. CO_2-Spannung für die Erkennung einer Acidose und richtet seine Polemik gegen Porges, Leimdörffer und Markovici, die zuerst (1910) die herabgesetzte CO_2-Spannung des Blutes als Anzeichen einer Mehrproduktion von fixen Säuren betrachtet haben sollen. An anderem Orte[5]) habe ich schon hervorgehoben, daß in der Physiologie dies eine schon alte Vorstellung ist, älter noch als die Vorstellung, geschweige denn der Nachweis von der C_H-Konstanz im Blute. Wenn z. B. Zuntz und Mitarbeiter[6]) (1906) die (im Hochgebirge) verstärkte Atmung bei herabgesetzter alv. CO_2-Spannung behandeln, so sind sie sofort nach den anderen sauren Sub-

[1]) Die Hervorhebungen von Michaelis.

[2]) Begun, Herrmann und Münzer, diese Zeitschr. 71, 255, 1915.

[3]) Auf welche Weise sonst eine Herabsetzung der alv. CO_2-Spannung zustande kommen sollte, ist mir nicht recht begreiflich (s. o.), da doch die CO_2-Produktion des Diabetikers keineswegs herabgesetzt ist.

[4]) l. c. S. 267.

[5]) Diese Zeitschr. 46, 403, 1912.

[6]) Höhenklima und Bergwanderungen S. 327.

stanzen, die bei Sauerstoffarmut die Atmung erregen, auf der Suche. Schon 1904 wurde die niedrige Blutkohlensäurespannung bei acidotischen Diabetikern von Beddard, Pembrey und Spriggs[1]) demonstriert und in derselben Weise interpretiert usw.

Übrigens ist ja nur bei beweislich normaler C_H· des Blutes, d. h. bei normaler Erregbarkeit des Atemzentrums, die Herabsetzung der alv. CO_2-Spannung ein Maß der Natriumverarmung des Blutes. Der Beweis, daß im gegebenen pathologischen Falle die C_H· des Blutes die normale ist, steht manchmal noch aus. Umgekehrt liegen Beweise vor, daß in sehr schweren Fällen von Diabetes[2]) und in einem Fall von Cheyne-Stokesscher Atmung[3]) die C_H· des Blutes abnorm groß, somit die Erregbarkeit des Atemzentrums abnorm niedrig war. Bei sehr großer Erregbarkeit des Zentrums, wie sie pathologisch sehr wohl denkbar ist, würde die ganze Betrachtungsweise direkt irreführen: die niedrige alv. CO_2-Spannung ist hier nur oder teilweise ein Ausdruck der gesteigerten Erregbarkeit.

Die Physiologie des Ammoniakstoffwechsels ist demnach kein fertig gebrachtes Forschungsgebiet, im Gegenteil. Doch waren es nicht so sehr die sich widersprechenden Auffassungen, die in der Literatur vorgefunden wurden, als vielmehr eigene, schwierig zu deutende Beobachtungen, die den vorliegenden Versuch einer Klärung der Probleme gezeitigt haben.

Gammeltoft und ich[4]) sahen, gelegentlich unserer Untersuchungen über die Neutralitätsregulation des graviden Organismus und in voller Übereinstimmung mit dem längst Bekannten, daß bei einer kohlenhydratfreien Ernährung der Harn stark sauer wurde, und daß zugleich der Faktor

$$\frac{\text{Ammoniakstickstoff}}{\text{Totalstickstoff}} \cdot 100$$

(die Ammoniakzahl) anstieg. Umgekehrt bei dem alkalischeren Harn bei Pflanzenkost. Indem wir immer die C_H· der Harne bestimmten, ergab sich somit der Befund, daß C_H· und Ammoniakzahl zusammen variierten.

Lindhard und ich[5]) fanden später, daß auch bei gewöhn-

---

[1]) Journ. of Physiol. (Proc. Physiol. Soc.) 31, 44, 1904.

[2]) E. P. Poulton, Journ. of Physiol. (Physiol. Proc.) 1915, 50.

[3]) White, Ryffel, Poulton u. m., Quarterly Journ. of Medicine 7, Juli 1914.

[4]) Diese Zeitschr. 68, 1915.

[5]) Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas. IV. Voranstehende Abh.

licher, gemischter Kost die Harnreaktion von Tag zu Tag recht bedeutend variieren kann, und daß auch unter diesen Umständen die $C_{H^{\cdot}}$ und die Ammoniakzahl nach derselben Seite hin variierten. Die graphische Darstellung der Messungsresultate ließ vermuten, daß eine gesetzmäßige Relation zwischen den beiden Größen bestehe.

Bei dieser Sachlage mußte es befremdend wirken, daß Gammeltoft und ich in der Gravidität ein ganz anderes Verhältnis entdeckten. Die Frauen wurden zuerst spät in der Schwangerschaft, dann nach der Entbindung untersucht, und ganz durchgehends fanden wir für jede einzelne gravide Versuchsperson eine höhere Ammoniakzahl bei niedrigerer $C_{H^{\cdot}}$ des Harns als bei derselben Frau nach der Entbindung. Dasselbe war bei eintretendem Fieber der Fall: der Harn wurde bei wachsender Ammoniakzahl alkalischer, nicht wie bei Koständerungen saurer befunden.

Der scheinbare Widerspruch dieser Befunde konnte unmöglich auf Zufall und Versuchsfehlern beruhen; dazu waren bei dem großen Beobachtungsmaterial die Ausschläge viel zu groß. Es mußten zwei sich kreuzende Gesetzmäßigkeiten obwalten, die aufgesucht werden mußten, wenn überhaupt die Bedeutung des Ammoniaks für die Neutralitätsregulation des Organismus aufgeklärt werden sollte.

Aus den Arbeiten von Camerer jun.[1]), Loeb[2]) und Gammeltoft[3]) kennen wir die normalen täglichen Schwankungen der Ammoniakzahl, die von den genannten Verfassern zu den Mahlzeiten in Verhältnis gebracht, und zwar (Loeb) durch die Salzsäuresekretion des Ventrikels und die Rückwärtsresorption aus dem Darmkanal erklärt wurden.

Durch diese schubweise Verarmung und Anreicherung des Blutes an Cl-Ionen sollte das Blut abwechselnd relativ alkalisch und relativ sauer werden und dabei die entsprechenden kompensatorischen Schwankungen der Ammoniakproduktion auslösen. Diese Erklärung ist sicherlich nicht zutreffend (s. u.).

Ich[4]) selbst hatte bei zwei Versuchspersonen bei ver-

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. 43, 1902.
[2]) Zeitschr. f. klin. Med. 56, 1905.
[3]) Hospitalstidende 1911.
[4]) Diese Zeitschr. 46, 417 bis 420, 1912.

schiedener Ernährung die 2 stündlichen Variationen der $C_{H^\cdot}$ im Harne kennen gelernt. Es lag somit nahe, diese beiden Untersuchungen zu kombinieren.

Versuchsanordnung und Methoden.

Der Harn wurde zu regelmäßigen Zeiten in mit ca. 2 ccm Toluol beladenen Flaschen mit Kautschukverschluß gelassen, und zwar in den meisten Fällen jede 2. Stunde von 8 Uhr morgens bis 10 Uhr abends. Auf diese Weise kamen zur Untersuchung 8 Harnportionen, 7 den 14 Tagesstunden, 1 den 10 Nachtstunden entstammend. Die meisten Versuchspersonen nahmen bei freier Nahrungswahl ihre Mahlzeiten um etwa 8 Uhr vorm., 12 Uhr mittags und 6 Uhr nachm. ein, einige jedoch auch zu anderen Zeiten. Der Harn wurde, soweit möglich — und in den meisten Fällen auch faktisch —, restlos gesammelt.

Die 8 Harnportionen wurden kühl aufbewahrt und niemals später als 24 Stunden nach der Entleerung untersucht. Übrigens erwies sich durch Kontrolluntersuchungen selbst eine 3 tägige Aufbewahrung unter den genannten Kautelen als in allen Beziehungen unschädlich.

In den Harnen wurde der Totalstickstoff nach Kjeldahl, das Ammoniak durch Destillation von 10 oder 20 ccm Harn mit $Ba(OH)_2$ im Vakuum bei 43°, und die Wasserstoffionenkonzentration (elektrometrisch nach Hasselbalch) bei Zimmertemperatur bestimmt. Die $C_{H^\cdot}$ des Harns ist bei Zimmertemperatur und bei Bluttemperatur so wenig verschieden[1]), daß es mir nicht des größeren Zeitaufwandes wert erschien, die Bestimmungen bei 37° durchzuführen.

Versuchsergebnisse.

Im ganzen wurden auf die beschriebene Weise 27 Personen, Kinder, Männer und Frauen von jedem Alter zwischen 7 und

---

[1]) Nach eigenen, nur wenigen Untersuchungen hatte ich bei Erhöhung der Temperatur von 18° bis auf 37° eine Erniedrigung des p_H im Harne von 0,1 vermutet. Dr. Höst (Christiania) hat nun in diesem Laboratorium die Erniedrigung 0,13 festgestellt, gleichviel ob der untersuchte Harn sauer oder alkalisch ist. (Veröffentlicht an anderem Orte.)

78 Jahren untersucht. Bei 17 Personen wurde die tägliche Untersuchung innerhalb eines halben Jahres mehrmals wiederholt. Die meisten Bestimmungen wurden an K. A. H. (40 jährigem gesunden Mann) vorgenommen, der innerhalb eines Zeitraumes von 9 Monaten an 24 verschiedenen Tagen untersucht wurde.

Ich muß natürlich darauf verzichten, das große Zahlenmaterial vorzulegen, das ca. 1000 zusammengehörende Bestimmungen der Harnmenge, des $p_{H^{\cdot}}$, der Ammoniakmenge und des Stickstoffgehaltes der Harne umfaßt. Die Hauptergebnisse dieser Untersuchung, sowohl die positiver als auch die negativer Natur, sollen an der Hand ausgewählter Beispiele durch Tabellen und Kurven demonstriert werden, indem ich überall hervorhebe, inwieweit und wo ich von den aufgestellten Regeln Ausnahmen getroffen habe. Beobachtungen nebensächlicher Natur gebe ich ohne zahlenmäßigen Beleg wieder.

Die Tabelle I enthält für die Versuchsperson K. A. H. die Einzelwerte des $p_{H^{\cdot}}$ und der Ammoniakzahl dreier Tage. Durch senkrechte, punktierte Linien sind die Zeitpunkte der Mahlzeiten angedeutet.

Tabelle I.

Am		Vormittags			Nachmittags					Diurese	Pro Tag		Amm.-Z. des Tages
		8h	10h	12h	2h	4h	6h	8h	10h		NH_3-N g	N g	
16. II.	$p_{H^{\cdot}}$	6,54	5,14	5,87	5,09	4,78	6,28	5,87	7,48	1650	0,445	13,93	3,2
	Amm.-Z.	2,3	5,1	3,2	5,7	6,7	2,1	2,9	1,1				
18. II.	$p_{H^{\cdot}}$	6,20	5,21	6,30	5,01	6,24	5,35	6,24	7,78	1314	0,434	13,74	3,2
	Amm.-Z.	3,0	5,7	2,8	5,7	2,3	3,7	2,3	0,8				
24. XI.	$p_{H^{\cdot}}$	5,52	5,40	7,72	6,17	7,02	5,90	5,64	5,86	1026	0,354	11,33	3,1
	Amm.-Z.	3,7	5,8	1,7	2,5	1,9	2,4	3,2	3,1				

Eine Durchsicht dieser Tabelle lehrt, was aus den untenstehenden Kurven nicht hervorgeht, auf welche Weise bei K. A. H. und bei allen untersuchten normalen, von gemischter Kost lebenden, einigermaßen gut ernährten Personen im Laufe des Tages die Harnreaktion wechselt, immer von entsprechenden Änderungen der Ammoniakzahl begleitet, indem bei saurem Harn eine hohe, bei mehr alkalischem Harn eine niedrige Ammoniakzahl gefunden wird. 3 bis 4 Stunden nach

einer Mahlzeit, d. h. zur Zeit der Kohlenhydratverbrennung, steigt der p_H. des Harns fast ausnahmslos an.

Daß dieses Moment das maßgebende ist, und daß nicht, wie Loeb (s. o.) annimmt, die Salzsäuresekretion des Ventrikels den wechselnden Ammoniakgehalt des Harns bedingt, das geht aus den folgenden Beobachtungen hervor.

I. Fig. 1, die (bei unbedeutender Umarbeitung) einer früheren Arbeit[1]) entstammt, zeigt, daß bei K. A. H. nur eine Kost, die Kohlenhydrate enthält, die betreffenden Reaktionsänderungen auslöst, und zwar um so stärker, je kohlenhydratreicher die Kost ist. Die soweit möglich kohlenhydratfreie Diät (die doch wohl noch mehr als die vegetarische die Salzsäuresekretion des Ventrikels befördert), gibt einen sehr sauren Harn fast ohne Tagesschwankungen der Reaktion. Am 2. Inanitionstag ist der Harn noch saurer als bei der (niemals ganz glykogenfreien) Fleisch-Fett-Diät und weist ebenfalls keine Schwankungen der Acidität auf.

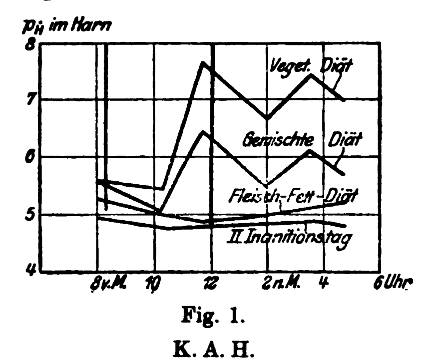


Fig. 1.
K. A. H.
p_H. im Harn bei verschiedener Diät. Die starken, senkrechten Linien bezeichnen die Mahlzeiten.

II. Es sind nicht, wie man sich vorstellen könnte, die mit der kohlenhydratreichen Mahlzeit eingeführten Elektrolyte, die die Alkalescierung des Harns bewirken. Denn am 1. Inanitionstag, sogar bis 24 Stunden nach der letzten Mahlzeit, hat der Harn einen auffallend hohen p_H. (und ist entsprechend ammoniakarm, siehe zwei Versuche[2]) mit K. A. H. und den untenstehenden Inanitionsversuch). Erst am 2. Inanitionstag, nachdem der Glykogenvorrat verbraucht ist, fängt der Harn an, die niedrigen p_H.-Werte und die hohen Ammoniakzahlen der Fleisch-Fett-Verbrennung anzunehmen; am Ende dieses Tages sind die Ammoniakzahlen auffallend groß.

[1]) Diese Zeitschr. 46, 419, 1912.
[2]) a. a. O. S. 417.

Tabelle II.

Inanitionsversuch mit K. A. H. Letzte Mahlzeit am 28. III. 12 Uhr.

Am		Nachmittags					Vormittags			Diurese	Pro Tag		Amm.-Z. des Tages
		2^h	4^h	6^h	8^h	10^h	8^h	10^h	12^h		NH_3-N g	N g	
28.–29. III.	p_H	5,98	6,82	7,03	5,83	5,98	5,76	5,31	6,51	1434	0,514	13,93	3,7
	Amm.-Z.	4,3	3,0	2,1	3,7	3,1	4,7	4,9	2,8				
29.–30. III.	p_H	5,06	4,91	5,43	5,22	5,17	5,09	5,09	5,10	1089	0,791	12,21	6,6
	Amm.-Z.	4,8	5,4	3,4	3,7	5,8	7,9	9,8	7,1				

Mit dieser Beobachtung stimmt auch die früher gemachte Erfahrung[1]) überein, daß am 1. Inanitionstag die alv. CO_2-Spannung K. A. H.s unverändert bleibt und erst am 2. Hungertag auf die Werte der reinen Fleisch-Fett-Verbrennung herabsinkt.

Die Tagesschwankungen der Harnreaktion beziehen sich demnach in irgendeiner Weise auf den normalen Verlauf des Kohlenhydratstoffwechsels. So versteht sich etwas besser die unveränderlich saure Harnreaktion auch des nicht acidotischen Diabetikers, der die verabreichten Kohlenhydrate nur mangelhaft verbrennt. Auch die chronische Unterernährung, besonders wenn sie mit reichlicher Muskelarbeit kombiniert ist, zeichnet sich durch einen sehr sauren Harn ohne Tagesschwankungen der Reaktion aus, auch wenn die Ernährung durch gemischte Kost geschieht. In einem derartigen Fall bestimmte ich während einer Woche täglich 8 mal die Harnreaktion und fand den p_H des Harns stets zwischen 4,9 und 5,4 liegen. Dieselbe Person (J., s. u.) zeigte später bei wesentlich gebesserter Ernährung und ruhiger Lebensweise sehr ausgiebige Tagesschwankungen der Harnreaktion. Offenbar sind diese Schwankungen an die Verbrennung deponierter Kohlenhydrate gebunden, bei welcher Gelegenheit somit Elektrolyte von vorwiegend basischem Charakter aus dem Körper entfernt werden.

Um nun auf die Zahlenergebnisse der Tabelle I zurückzukommen, so zeigt erst die graphische Darstellung (Fig. 2) recht deutlich die Beschaffenheit der Funktion. Eine Reaktions-

[1]) a. a. O. S. 417.

verschiebung des Harns von $p_{H^{\cdot}} = 5$ bis $p_{H^{\cdot}} = 5{,}8$ bewirkt eine Herabsetzung der Ammoniakzahl um 3,3, während eine ebenso große Änderung von $p_{H^{\cdot}} = 5{,}8$ bis $p_{H^{\cdot}} = 6{,}6$ eine Herabsetzung der Ammoniakzahl um nur 1,2 auslöst. Die Kurve, die die Bestimmungen vereinigt, ist eine rechtwinkelige Hyperbel. Die Grenzwerte liegen in diesem Falle ungefähr bei der Amm.-Z. 0 und bei dem $p_{H^{\cdot}} = 4{,}1$, d. h. solche Werte werden niemals er-

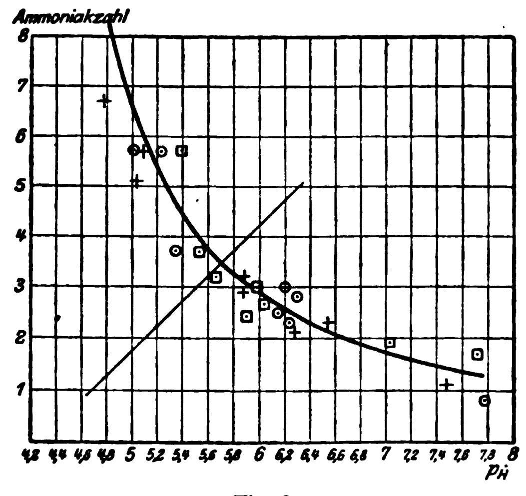


Fig. 2.

K. A. H. + Am 16./2.
⊙ „ 18./2.
⊡ „ 24./11.

reicht, was ja auch genügend bekannt ist. Ein ammoniakfreier Harn existiert beim Menschen nicht; selbst bei einem $p_{H^{\cdot}}$ des Harnes von der Größe 8,3 (durch große Natriumbicarbonatdosen bewirkt) sahen Hasselbalch und Gammeltoft[1]) bei der Versuchsperson K. A. H. eine Ammoniakzahl von 0,2. Und ein Harn von größerer Acidität als $p_{H^{\cdot}} = 4{,}7$ ist meines Wissens niemals beobachtet worden.

Daß der Harn niemals alkalischer als das Blut ($p_{H^{\cdot}} = 7{,}4$) sein sollte, darin kann ich, dem Obenstehenden zufolge, Michaelis[2]) nicht beipflichten. Spontanerweise kommen Harnreaktionen von $p_{H^{\cdot}} = 7{,}6$ bis

[1]) a. a. O. S. 263.

[2]) Die Wasserstoffionenkonzentration, S. 108.

7,8 gar nicht selten vor (siehe Fig. 2). Solche Messungen habe ich, wegen des naheliegenden Verdachtes einer ammoniakalischen Gärung, des öfteren nach vielstündigem Stehenlassen des Harns mit genau dem gleichen Ergebnis wiederholt, und zwar unter der Kontrolle einer gleichzeitigen Ammoniakbestimmung. Im Tagesharn kommt eine so alkalische Reaktion spontanerweise allerdings sehr selten vor, doch ist sie, auch bei 37°, mehrmals konstatiert worden[1]).

Fig. 3 zeigt die Kurve eines gesunden 20jährigen Mannes, der am 5. III., 6. IV. und 29. VI. untersucht wurde. Man sieht, daß die Kurve die gesamten 24 Bestimmungen zwanglos vereinigt.

Die Kurve, die auch hier — wie überhaupt in allen Fällen — eine rechtwinkelige Hyperbel ausmacht, hat ihre Grenzwerte bei Amm.-Z. 1,5 und $p_{H^{\cdot}} = 4,4$. Für unsere Zwecke ist die

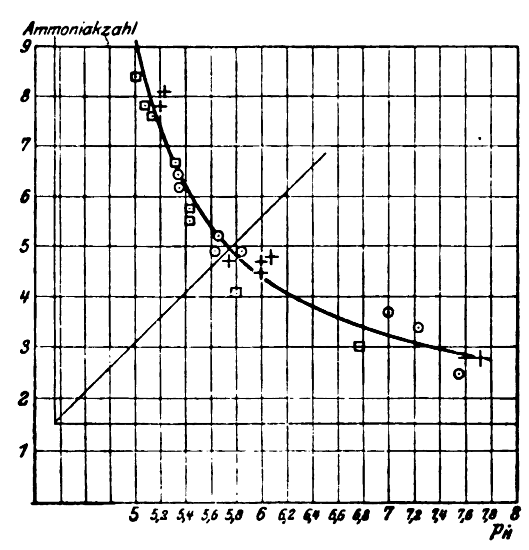


Fig. 3.

E. + Am 5./3.
⊙ „ 6./4.
⊡ „ 29./6.

Kurve genügend charakterisiert, wenn die Ammoniakzahl bei einer bestimmten Harnreaktion angegeben wird. Ich habe aus praktischen Gründen den $p_{H^{\cdot}} = 5,8$ gewählt und bezeichne die

[1]) Hasselbalch und Gammeltoft a. a. O. S. 248.

Amm.-Z. bei $p_{H^{\cdot}} = 5{,}8$ als die reduzierte Ammoniakzahl eines Harns. Diese Größe ist für K. A. H. (Fig. 2) 3,2, für E. (Fig. 3) dagegen 4,8. Eine gegebene Harnreaktion wird bei E. mit einer wesentlich größeren relativen Ammoniakproduktion beantwortet als bei K. A. H.

Ich habe bisher nicht die Frage erörtert, warum es die relative und nicht die absolute Ammoniakproduktion ist, die zu der aktuellen Harnreaktion in Verhältnis gebracht werden muß. Von den theoretischen Gründen, die ein solches Vorgehen berechtigen, werde ich absehen. Ein praktischer Grund dafür ist es, daß zwischen dem $p_{H^{\cdot}}$ und der absoluten Ammoniakmenge des Harns gewöhnlich gar keine feste Relation besteht, nämlich nur in solchen Fällen, wo die Gesamtstickstoffmenge des Harns für jede 2 stündige Periode des Tags konstant ist. Auch die individuelle Konstanz der Ammoniakzahlkurve, wovon die obenstehenden Figuren 2 und 3 schon ein vorläufiges Zeugnis abgelegt haben, trifft nur für die relativen, nicht für die absoluten Ammoniakwerte zu. Das geht in der einfachsten Weise aus der Betrachtung solcher Fälle hervor, wo die Tagesmenge des Totalstickstoffes stark variiert, während der $p_{H^{\cdot}}$ unverändert ist.

Beispiel: Bei E. (Fig. 3) betrug am 5. III. der Totalstickstoff des Tages 9,1 g, am 6. IV. 11,2 g, der Ammoniakstickstoff am 5. III. 0,43 g, am 6. IV. 0,55 g. Der $p_{H^{\cdot}}$ des Harns war in beiden Fällen durchschnittlich 6,2 und die Ammoniakzahl des Tages in beiden Fällen 4,8.

Die untenstehenden zwei Beispiele, die aus den Versuchsprotokollen beliebig vervielfacht werden können, illustrieren, mit wie großer Präzision bei konstantem $p_{H^{\cdot}}$ nicht die Ammoniakkonzentration im Harne und nicht die absolute Am-

Tabelle III.

	Harn (2 Std.) ccm	$p_{H^{\cdot}}$	NH_3-N in 100 ccm mg	NH_3-N im ganzen mg	N in 1 ccm mg	N im ganzen g	Amm.-Z.
Frau A. H. am 18. X.	355	5,28	27,5	98	5,3	1,88	5,2
	122	5,29	52,0	63	10,4	1,27	5,0
Frl. P. am 11. IX.	22	5,66	47,5	10	11,4	0,25	4,1
	32	5,68	64,5	21	15,5	0,50	4,2

moniakproduktion pro Stunde, sondern nur der Ammoniakanteil des Stickstoffwechsels, die Ammoniakzahl, konstant ist.

In einem Fall von Schrumpfniere mit sekundärer Herzhypertrophie bei einem 47jährigen Mann (D.) fand ich doch, daß bei der 2tägigen Untersuchung die absoluten Ammoniakwerte eine viel bessere Übereinstimmung mit der Kurvenfunktion als die relativen Werte lieferten. Der Grund dafür dürfte in der in solchen Fällen erschwerten und unregelmäßigen Harnstoffausscheidung zu finden sein, wofür der Umstand spricht, daß an dem einen Tage 53% der Totalstickstoffmenge des Harns im Laufe der (9) Nachtstunden ausgeschieden wurden. Normalerweise werden in meinem Material während der 10 Nachtstunden (= 42% von 24 Stunden) nur etwa 35% der Stickstoffmenge des ganzen Tages ausgeschieden, demnach während 9 Nachtstunden nur 32%.

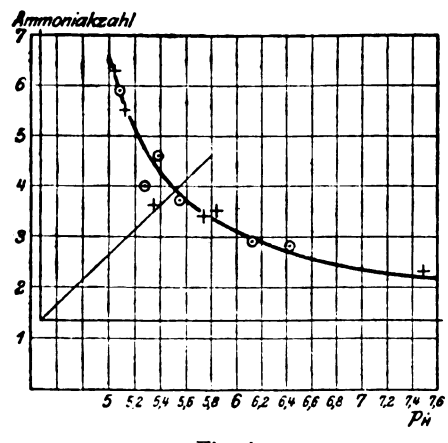


Fig. 4.

Chr. + Am 9./10.
⊙ „ 11./10.

In dem durch die Fig. 4 repräsentierten Fall wurden täglich nur 6 Harnportionen untersucht. Die Einzelbestimmungen der zwei Tage schließen sich verhältnismäßig eng an die Hyperbel, deren Asymptoten hier bei der Ammoniakzahl 1,3 und bei dem $p_{H^{\cdot}} = 4,5$ liegen. Die reduzierte Ammoniakzahl ist 3,3. Die Versuchsperson litt an Angina pectoris, war doch während der beiden Tage anfallsfrei.

Fig. 5 stellt die am stärksten gekrümmte Hyperbel dar, die ich überhaupt getroffen habe. Es handelt sich um einen gesunden 23jährigen Mann. Sämtliche an drei verschiedenen Tagen ausgeführte Einzelbestimmungen sind in der Figur angegeben. Dabei bemerkt man, daß sowohl am 17. III., da die 2stündliche Harnportion zur Untersuchung kam (8 Bestimmungen), als am 29. V., da der Tag in nur 5 Perioden eingeteilt war, einige nach oben hin abweichende Bestimmungen vorkommen.

Es ist leicht begreiflich, daß bei der angewandten Untersuchungsmethode und besonders bei stark gekrümmter Hyperbel solche Abweichungen nach oben ab und zu vorkommen müssen. Die 2stündliche oder sogar (während der Nacht) 10-stündliche Sekretionsperiode, die zur Untersuchung kommt, dürfte nämlich mitunter aus z. B. zwei Perioden zusammengesetzt sein, wovon die eine Periode einen stark sauren, die zweite einen alkalischen Harn geliefert hat. Der $p_{H^{\cdot}}$ einer solchen Mischung von zwei — sagen wir — gleichgroßen Komponenten ist, in Betracht der pufferreichen Lösungen, um die es sich handelt, praktisch das arithmetische Mittel der beiden. Ist die Totalstickstoffmenge der beiden Perioden die gleiche, so macht natürlich auch die Ammoniakzahl der Mischung das arithmetische Mittel der beiden Perioden aus. Mit anderen Worten, die Bestimmung wird an einer geraden Verbindungslinie (etwa wie die punktierte Linie auf Fig. 5) zwischen zwei Punkten der Hyperbel zu liegen kommen.

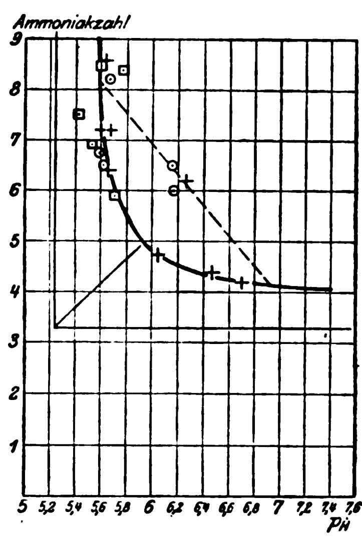


Fig. 5.

M. + Am 17./3.
⊙ „ 29./5.
⊡ „ 30./5.

Das ist der Grund, warum die meisten Abweichungen nach oben, die ich gefunden habe, die 10stündliche Sekretionsperiode während der Nacht betreffen. Aber auch ein anderer, ganz regelmäßig vorkommender Befund erklärt sich in derselben Weise. Wenn man bei einer Person, deren Kurve bei 2stündlichen Observationsperioden bestimmt worden ist, die Bestimmungen am Tagesharn vornimmt, so fallen diese Zahlen durchgehends etwas höher aus als der Kurve nach zu erwarten wäre; durchschnittlich findet man im Tagesharn bei dem $p_{H^{\cdot}} = 5,8$ eine um 0,5 höhere Ammoniakzahl als im Harn der 2stündlichen Perioden (25 Beobachtungen an 3 Personen). Benutzt

man dagegen statt 2 stündlicher Sekretionsperioden $^1/_2$ stündliche, so wird die Kurve **nicht** merkbar nach **unten** verschoben (Beobachtungen an 2 Personen, s. u.).

Die Regel, daß die reduzierte Ammoniakzahl des Tagesharns merkbar größer ist als die der 2 stündlichen Harnportion, gilt natürlich nur in Fällen, wo größere Tagesschwankungen der Harnreaktion vorkommen. Ist der Harn von Stunde zu Stunde von fast derselben Reaktion, wie z. B. bei der reinen Fleisch-Fett-Diät, so fällt, was die einfache Betrachtung einer typischen Kurve lehrt, die reduzierte Ammoniakzahl des Tagesharns mit der der 2 stündlichen Harnportion zusammen.

Den weit größeren Teil der Abweichungen von der individuellen Kurve bilden solche, die zu hoch liegen. Bemerkenswerterweise handelt es sich in solchen Fällen fast immer um einen auffallend reichlichen, wenig konzentrierten Harn. Wenn die 2 stündliche Diurese 2- bis 3 mal so groß als das sonstige Mittel des Tages ist, sieht man recht oft, daß die betreffende Ammoniakzahl zu hoch ausfällt.

Bei einer der untersuchten 27 Personen kamen praktisch keine Tagesschwankungen der Harnreaktion vor, so daß die genaue Beziehung zur Ammoniakzahl des Harns nicht festgestellt werden konnte.

In zwei pathologischen Fällen war von der oben beschriebenen Gesetzmäßigkeit kaum eine Spur vorhanden. Die eine Person war eine an schwerem, acidotischem Diabetes leidende Frau, die die folgende Kost erhielt: täglich 1000 g Gemüse, 150 g Fett, 3 Eier, dazu 6 mal 5 g Natrium bicarbonicum (daher die Reaktionsschwankungen des Harns). In der untenstehenden Zusammenstellung sind die 8 Bestimmungen des Tages nach fallender Harnacidität geordnet. Die entsprechenden Ammoniakzahlen stellen, wie leicht ersichtlich, keineswegs eine fallende Reihe dar, sondern variieren nur wenig und unregelmäßig. Dasselbe trifft für die absoluten, 2 stündlichen NH_3-Zahlen zu.

p_H	5,29	5,35	5,44	5,46	5,54	5,63	6,19	6,98
Ammoniak-Zahlen . .	21,8	21,4	23,1	24,7	23,0	18,5	22,1	19,7
NH_3-N (für 2 St.) mg .	124	136	124	92	101	101	108	104

In dem zweiten Fall handelte es sich um einen an luetischer Herzkrankheit leidenden Mann, der im Laufe von 2 Tagen 6 mal täglich untersucht wurde. Die untenstehende Zusammenstellung der 12 zusammengehörenden Werte läßt absolut keine Gesetzmäßigkeit erkennen.

p_H	5,15	5,17	5,18	5,20	5,20	5,36	5,50	5,64	5,84	5,92	6,41	8,06
Ammoniak-Zahlen .	3,3	3,6	4,3	4,3	3,8	4,3	4,0	3,1	5,1	3,6	4,4	3,4
NH_3-N (für 3 St.) mg	47	28	50	46	38	50	39	33	15	49	59	—[1]

In dem unten beschriebenen Fall von leichtem Diabetes (Fig. 9) war die Übereinstimmung mit der hyperbolischen Kurve auffallend mangelhaft.

Bei den übrigen 23 Personen, wovon 12 Normalindividuen sind, und wo sich unter den pathologischen Fällen auch Schwerkranke finden, ließ sich ohne Ausnahme die oben beschriebene hyperbolische Relation zwischen dem p_H und der Ammoniakzahl des Harns nachweisen. Die gelegentlich vorkommenden Abweichungen waren in keinem Fall größer als die auf der Fig. 5 gezeigten, so daß die Konstruktion der 69 Kurven niemals mit bedeutender Unsicherheit behaftet war.

Fig. 6 enthält eine Auswahl von 9 Kurven, die sowohl Normalindividuen (M., A. H., E., J., K. A. H.) als Patienten (S. R.: Mb. Basedowii, P. und Al.: Lupus vulgaris, O. N.: Herzinsuffizienz mit Cyanose) betreffen. Die Kurven sind nach beiden Seiten hin so weit gezeichnet, wie gegebenenfalls Bestimmungen vorliegen. Die Hyperbeln der übrigen 14 Personen fügen sich

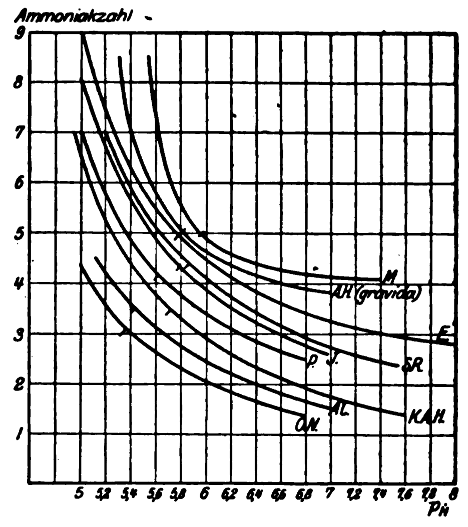


Fig. 6.
p_H und Ammoniakzahl im Harn bei 9 verschiedenen Menschen.

[1]) Etwas Harn verloren gegangen.

in dieses Schema zwanglos ein, und zwar derart, daß stets eine höher gelegene Kurve mehr nach rechts gelegen ist. Die Achse der verschiedenen Hyperbeln fällt, in Betracht unvermeidlicher Versuchsfehler und zufälliger Abweichungen (s. o.), praktisch zusammen.

Die an den Kurven abgelesenen reduzierten Ammoniakzahlen der 23 Personen finden sich in der untenstehenden Zusammenstellung aufgeführt. Die Zahlen, die der Größe nach geordnet sind, variieren zwischen 5,5 und 2,2, und zwar betreffen diese beiden Außenglieder der Reihe Normalindividuen.

Tabelle IV.
Reduzierte Ammoniakzahlen bei 23 verschiedenen Menschen.

Fall	Reduz. Amm.-Z.	Anzahl der Beob-achtg.	Beschreibung des Falles
M.	5,5	3	♂, 23 Jahre, gesund.
B. A. . . .	5,3	2	♀, 35 „ Lupus vulgaris.
A. G. . . .	5,2	1	♀, 20 „ gesund.
M. J. . . .	5,1	2	♀, 65 „ Lupus vulgaris.
E.	4,9	3	♂, 18 „ gesund.
S.	4,7	2	♀, 23 „ Lupus vulgaris.
S. R. . . .	4,5	3	♀, 49 „ Mb. Basedowii.
L.	4,2	3	♂, 21 „ gesund.
M. N. . . .	4,2	1	♀, 33 „ gesund.
J.	4,2; 3,8	3 + 3	♂, 32 „ gesund.
D.	4,1	1	♂, 47 „ Nephritis parenchym.
K. G. . . .	4,0	1	♂, 7 „ gesund.
A. H. . . .	3,9	2	♀, 35 „ gesund.
P.	3,8	2	♀, 18 „ Lupus vulgaris.
Sch.	3,8	2	♂, 34 „ Lupus vulgaris.
P. N. . . .	3,5	1	♂, 78 „ gesund.
K. A. H. . .	3,5; 3,2	20 + 4	♂, 40 „ gesund.
Chr.	3,3	2	♂, 57 „ Angina pectoris.
F. J. . . .	3,2	2	♀, 30 „ Tuberc. pulm., III. Stadium.
Al.	2,7	2	♂, 11 „ Lupus vulgaris.
K. R. . . .	2,6	1	♀, 20 „ gesund.
O. N. . . .	2,3	2	♂, 47 „ Insuff. cordis mit Cyanose.
E. sen. . . .	2,2	1	♂, 48 „ gesund, der Vater E.s.

Bei dieser großen, normalen Variationsbreite der Funktion erkennt man, daß pathologische, therapeutische und experimentelle Beeinflussungen der reduzierten Ammoniakzahl mit Sicherheit nur bei einer gegebenen Person, deren reduzierte Ammoniakzahl im voraus bekannt ist, beurteilt werden können.

Wie groß ist nun die behauptete persönliche Konstanz der reduzierten Ammoniakzahl?

Bei 7 der 23 Personen wurde nur eine einzelne Kurve konstruiert; diese Fälle sind somit für die Beantwortung der aufgestellten Frage nicht verwertbar. In den übrigen 16 Fällen wurde auf Grund der 8 (5) Bestimmungen eines Tages die Kurve gezeichnet und bei der oder den späteren Untersuchungen an fast genau derselben Stelle des Koordinatensystems wiedergefunden (siehe Tabelle IV: Anzahl der Beobachtungen, sowie die Fig. 2 bis 5).

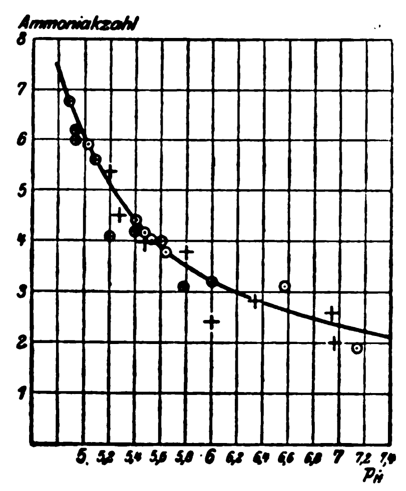


Fig. 7.

K. A. H. + Am 9./4.
○ „ 22./4., 0,44 g HCl.
● „ 28./4., 0,09 g Chloret. muriat.

Absoluter Natur ist diese Konstanz allerdings nicht. Ich möchte sagen: sie ist von derselben Ordnung wie die individuelle Konstanz der alveolaren CO_2-Spannung, womit (s. u.) die Erhaltung der individuellen reduzierten Ammoniakzahl unzweifelhaft zu tun hat.

Bei K. A. H. fand sich am 16. II. und 18. II. (siehe Fig. 2) die red. Amm.-Z. 3,2, die noch am 23. III. konstatiert wurde. Am 9. IV. war aber die red. Amm.-Z. K. A. H.s 3,5 (siehe Fig. 7), und nun wurde bei 19 späteren Untersuchungen (April bis Oktober) immer die red. Amm.-Z. 3,5 gefunden. Am 24. XI. war die red. Amm.-Z. wieder 3,2 (siehe Fig. 2). Die Möglichkeit einer Wirkung der Jahreszeit drängt sich auf.

Bei J. war am 27. II., 12. IV. und 18. IV. die red. Amm.-Z. 4,2, dagegen am 19. III., 7. IV. und 3. VII. 3,8.

Soweit die Untersuchungen sich erstrecken, kann demnach normalerweise die reduzierte Ammoniakzahl verschiedener Menschen zwischen 2,2 und 5,5 liegen, während für die gegebene Person diese Zahl innerhalb enger Grenzen, etwa $\pm 5\%$ des Mittelwertes, variiert.

Nachdem diese Orientierung in den Beziehungen zwischen der Reaktion des Harns und der Ammoniakausscheidung des Organismus die Aufstellung einer individuellen Ammoniakzahlkurve ergeben hat, ist nun die Frage zu beantworten: Ist es irgendwie möglich, die Lage der Kurve zu beeinflussen?

Die oben erwähnte Beobachtung, daß gelegentliche Abweichungen nach oben sehr oft einen ungewöhnlich dünnen, reichlichen Harn betreffen, veranlaßte den Versuch, durch Verabreichung großer Wassermengen eine Änderung der Kurve herbeizuführen (1 Versuch mit K. A. H., Diurese 3300 ccm gegen 1300 vor dem Versuch). Der Versuch fiel völlig negativ aus, indem die Kurve unverändert blieb.

Eine tägliche Zulage zu der gewöhnlichen gemischten Kost von 25 g NaCl 2 Tage nacheinander war gleichfalls erfolglos (4 Versuche mit K. A. H. und J.).

Salzsäure in einer täglichen Dosis von 8mal 15 ccm $^n/_{10}$-HCl = 0,44 g HCl während 6 Tage (Versuch mit K. A. H.) bewirkte eine deutliche Säuerung des Harns: p_H im Durchschnitt 5,8 statt 6,0 während der Vorperiode, und eine entsprechende Erhöhung der Ammoniakzahl: 4,0 statt 3,2. Die Einzelbestimmungen des ersten Tages sind auf der Fig. 7 verzeichnet; jeder der folgenden 5 Tage ergab damit vollkommen übereinstimmende Resultate. Durch die 6tägige Verabreichung der starken Mineralsäure ist eine vorwiegende Benutzung des linken, aufsteigenden Astes der individuellen Ammoniakzahlkurve bewirkt worden, die Kurve aber ist unverändert geblieben. Ich erinnere hier an den eingangs erwähnten Befund von Münzer, Herrmann und Begun, die bei entsprechenden Versuchen keine Änderung der alveolaren CO_2-Spannung fanden, woraus sie mit Recht schließen, daß die erhöhte Ammoniakerzeugung die überschüssige Zufuhr von Mineralsäure gedeckt hat, ohne daß die Natriumbicarbonatreserve des Organismus in Angriff genommen worden ist.

Eine noch stärkere Säuerung des Harns ohne Verschiebung der Ammoniakzahlkurve wurde durch Morphium bewirkt (1 Versuch mit K. A. H., Chloret. muriaticum innerlich 6mal 15 mg täglich). Der p_H. des Harns war dabei im Durchschnitt des Tages 5,28 (gegen 5,80), die Ammoniakzahl des Tages 5,2 (gegen 3,2), die reduzierte Ammoniakzahl aber un-

verändert, 3,5. Die Einzelbestimmungen sind auf der Fig. 7 verzeichnet.

Die 2 stündliche Einatmung sauerstoffarmer bzw. sauerstoffreicher Luftgemische erwies sich bei zahlreichen Versuchen mit K. A. H. und J. ebenso erfolglos. Erst das tagelange Verweilen bei geändertem Sauerstoffpartiardruck hat für die Ammoniakbildung eine nachweisbare Bedeutung (siehe die vorangehende und die nachfolgende Abhandlung).

Die bisher erwähnten experimentellen Bemühungen, die reduzierte Ammoniakzahl des Harns zu beeinflussen, waren somit vergebens. Nur der S. 26 geschilderte Inanitionsversuch mit K. A. H. zeigt gegen das Ende des zweiten Hungertages auffallend hohe Ammoniakzahlen, bei p_H. 5,10, Amm.-Z. 7,9, 9,8, 7,1, während die Normalkurve (Fig. 2) bei diesem p_H. die Ammoniakzahl 5,9 aufweist.

Für den Hungerzustand charakteristisch ist nun bekanntlich die Acetonurie, die auf einer Hyperproduktion von β-Oxybuttersäure und Acetessigsäure beruht. Es war nun naheliegend, einigen anderen acidotischen Zuständen nachzugehen, um zu erfahren, ob zwischen der Acidose und der Größe der reduzierten Ammoniakzahl des Harns eine prinzipielle Verbindung bestehe.

Für diese Untersuchung konnten die Messungen von Hasselbalch und Gammeltoft, die normale Gravidität betreffend, verwertet werden.

Die untenstehende kleine Tabelle ist ein Auszug aus der zitierten Arbeit von Hasselbalch und Gammeltoft[1]). Man sieht, daß für jede einzelne Person die Ammoniakzahl des Tagesharns vor der Entbindung (durchschnittlich um 1) größer ist als nach der Entbindung, während vor der Entbindung der Harn weniger sauer ist als nachher (p_H. durchschnittlich um 0,44 größer).

Nach dem, was wir jetzt von den normalen Beziehungen wissen, ist eine solche Kombination nur in der Weise denkbar, daß die individuelle Ammoniakzahlkurve während der Schwangerschaft nach rechts und nach oben verschoben wird.

---

[1]) l. c. S. 212.

Tabelle V.

Ammoniakzahl vor der Geburt	Ammoniakzahl nach der Geb.	p_H. des Tagesharns vor der Geb.	p_H. des Tagesharns nach der Geb.
6,1	4,9	5,34	5,31
5,2	4,6	5,02	4,83
8,0	6,8	7,25	6,43
5,6	4,7	5,92	5,35
4,6	4,1	6,11	5,48
6,1	4,9	5,66	5,52
5,6	4,9	5,69	5,56
6,0	5,0	5,60	5,70
6,8	5,6	6,18	5,67
4,8	3,7	5,26	5,05
6,3	5,4	5,80	5,16
Im Durchschn. 5,9	4,9	5,80	5,46

Wenn wir an den Durchschnittszahlen (Tabelle V) eine Reduktion auf den p_H. 5,80 vornehmen, indem wir dazu die Kurventafel (Fig. 6) benutzen, so bekommen wir:

reduzierte Ammoniakzahl vor der Geburt 5,9,
„ „ nach „ „ etwa . . 3,9,

wodurch die Tatsache, daß während der Schwangerschaft eine Verschiebung der Ammoniakzahlkurve nach oben stattgefunden hat, veranschaulicht wird.

Diese Deutung der früher gemachten Erfahrungen findet nun in der folgenden neuen Beobachtung eine entscheidende Stütze. Bei der Versuchsperson A. H. wurde während des 3., des 6. und des 9. Schwangerschaftsmonats sowie 1 Monat nach der Geburt durch 2 tägige Untersuchungen die Ammoniakzahlkurve bestimmt. Das Resultat wird durch die Fig. 8 veran-

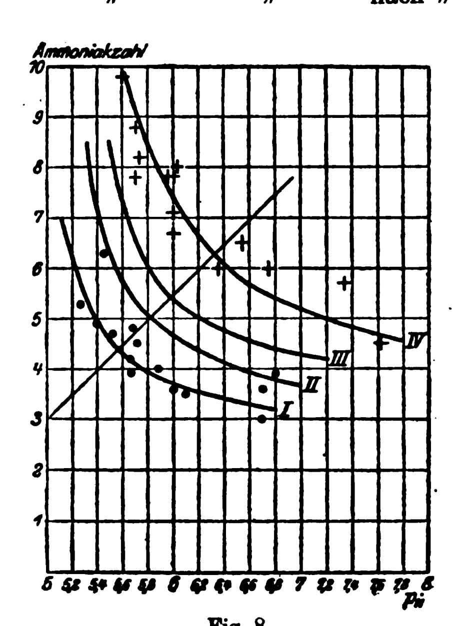


Fig. 8.

A. H. I am 25./10. u. 26./10., nach der Geburt
II „ 14./3. u. 22./3., III. Schwangerschaftsmonat
III „ 18./6. u. 21./6., VI. „
IV „ 5./9. u. 6./9., IX. „

schaulicht. Die 14 Bestimmungen des 9. Schwangerschaftsmonats sowie ebensoviele nach der Geburt sind alle in die Figur eingetragen, um aber diese nicht zu überfüllen, sind aus dem 3. und dem 6. Schwangerschaftsmonate nur die resultierenden Kurven gezeichnet worden.

Fig. 8 zeigt, daß mit der fortschreitenden Schwangerschaft die Ammoniakzahlkurve der Achse entlang immer mehr nach rechts und oben gleitet: red. Amm.-Z.: 5,0, 6,0, 8,4. 1 Monat nach der Entbindung wird dann die Kurve in ihrer (mutmaßlichen) Ausgangsstellung befunden, bei der red. Amm.-Z. 3,9. Die Asymptoten der 4 Kurven fallen praktisch zusammen, bei Amm.-Z. ca. 2,5 und p_H. ca. 4,8.

Die Durchschnittszahlen der vier untersuchten Perioden, den p_H. und die Ammoniakzahl des Harns betreffend, seien hier angeführt:

Schwangerschaftsmonat	p_H.	Amm.-Z.
III	5,8	5,1
VI	6,0	6,0
IX	6,2	7,8
Nach der Geburt . . .	5,8	4,3

Es darf mit allem Recht vermutet werden, daß während der Gravidität eine in ähnlicher Weise fortschreitende Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung, einer sukzessiven Na-Verarmung des Blutes entsprechend, stattfindet; bei einer früheren Gravidität derselben Versuchsperson[1]) wurde jedenfalls eine solche, bei 38 mm beginnende und bei 30 mm abgeschlossene Bewegung der alv. CO_2-Spannung konstatiert; nach der Geburt war die alv. CO_2-Spannung 38 mm. Der sehr schnell nach der Geburt erfolgende Absturz der reduzierten Ammoniakzahl traf bei den 11 Frauen der Tabelle V mit einer Erhöhung der alv. CO_2-Spannung von im Durchschnitt 7 mm[2]) zusammen.

Wir erkennen somit, daß in der Gravidität, in einem beweislich acidotischen Zustande, eine Verschiebung der Ammoniakzahlkurve nach oben gesetzmäßig eintritt.

Aller Wahrscheinlichkeit nach handelt es sich bei ein-

---

[1]) Hasselbalch und Gammeltoft, l. c. S. 230.

[2]) l. c. S. 239.

tretender Acidose des Diabetikers um eine entsprechende Verschiebung der Kurve nach oben. Dies geht einfach daraus hervor, daß der p_H. des Diabetikerharns keineswegs kleiner ist als der p_H. im Harne eines normalen, von Fleisch-Fett-Diät lebenden Menschen, während die Ammoniakzahl bekanntlich enorme Werte erreichen kann.

Für diese Vermutung spricht auch folgende Beobachtung. Die untere Kurve der Fig. 9 vereinigt die (sehr schlecht übereinstimmenden) Einzelbestimmungen am Harn eines 58jährigen, an leichtem Diabetes leidenden Mannes. An dem betreffenden Tage war (infolge der Diät) der Harn zuckerhaltig und acetonfrei. Die obere Kurve entstammt demselben Manne an einem anderen Tage, da zwecks dieser Untersuchung[1]) durch Kohlenhydratentziehung eine leichte Acidose — mit zuckerfreiem Harn — erzeugt wurde. Obschon auch hier die Kurve schlecht definiert ist, so ist doch der Erfolg unzweideutig; eine gegebene Harnreaktion bedingt jetzt, im beweislich acidotischen Zustande, eine viel höhere Ammoniakzahl als im nichtacidotischen Zustande.

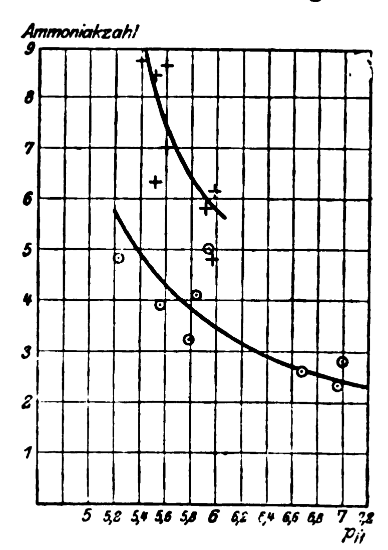


Fig. 9.
Je. Diabetes mellitus.
+ Am 29./6. Fett-Fleisch-Diät. Zuckerfrei. Acetonurie.
⊙ Am 4./7. Mischdiät. Harn zuckerhaltig und acetonfrei.

Über die Verhältnisse im infektiösen Fieber, das ebenfalls und unzweifelhaft mit Recht als acidotischer Zustand aufgefaßt wird, geben zwei zufällige Beobachtungen von Hasselbalch und Gammeltoft[2]) Aufschluß. Nur der Tagesharn wurde untersucht.

---

[1]) Dr. M. Lauritzen stellte auf meinen Wunsch in seiner Privatklinik diesen Versuch an und überließ mir den Harn zur Untersuchung, wofür ich meinen besten Dank abstatte.

[2]) l. c. S. 247 und 259.

		Amm.-Z.	p_H.	
Pat. Nr. 255.	Am 28. XII. . .	12,8	8,04	Fieber.
	" 1. I. . . .	9,2	7,62	
	" 2. . . .	6,1	6,31	Temp. normal.
	" 3. . . .	6,3	6,42	
	" 4. . . .	5,4	5,97	
	" 5. . . .	5,5	6,22	
Pat. Nr. 54.	Am 8. V. . .	11,1	7,06	Fieber.
	" 9. . . .	11,3	7,30	
	" 10. . . .	5,7	5,44	Temp. normal.
	" 11. . . .	5,7	5,23	
	" 12. . . .	6,3	5,19	
	" 13. . . .	6,6	5,16	
	" 14. . . .	5,5	5,13	
	" 15. . . .	5,1	5,13	
	" 16. . . .	4,4	5,13	
	" 17. . . .	4,1	4,89	

Nach dem Ergebnis dieser beiden Untersuchungsreihen kann man kaum daran zweifeln, daß im Fieber die erhöhten Ammoniakzahlen bei erhöhtem p_H. des Harns vorkommen, und daß demnach im Fieber die Ammoniakzahlkurve ebenfalls nach oben verschoben wird.

Endlich wurde bei dieser Gelegenheit die Wirkung der forcierten Muskelarbeit auf die Ammoniakzahlkurve untersucht. Die kurzdauernde, anstrengende Muskelarbeit hat als experimenteller Eingriff zwei augenfällige Vorteile. Erstens ist die dadurch bewirkte Acidose als feststehende Tatsache zu betrachten, zweitens geht nach dem Aufhören der Arbeit die Acidose recht schnell zurück. Es sollte demnach möglich sein, innerhalb weniger Stunden abnorm hohe und ganz normale Ammoniakzahlen des Harns hervorzurufen.

3 Versuche, 2 mit K. A. H., 1 mit J., bestätigten diese Vermutung. Es wurden hier halbstündliche Bestimmungen gemacht; nichtsdestoweniger stimmen die Ruhewerte mit den 2stündlichen Kurvenwerten befriedigend überein (Fig. 10). Die Arbeit wurde am Fahrrad-Ergometer verrichtet und war für K. A. H. beinahe maximaler Natur (Puls während der Arbeit bis 160, profuser Schweiß, große Ermüdung auch während der folgenden halben Stunde); für J., der viel besser trainiert war, war dieselbe Arbeitsleistung bedeutend weniger anstrengend.

Das Ergebnis der beiden Versuche mit K. A. H. ist durch die Fig. 10 illustriert. Während der anstrengenden Arbeit und während der folgenden halben Stunde ist in allen 4 Fällen die Ammoniakzahl des Harns bedeutend höher, als die Harnreaktion erwarten läßt. Bei dem Versuch am 23. VI. war die Versuchsperson fastend, am 24. VI. wurde der Versuch direkt nach einem ziemlich reichlichen, stark

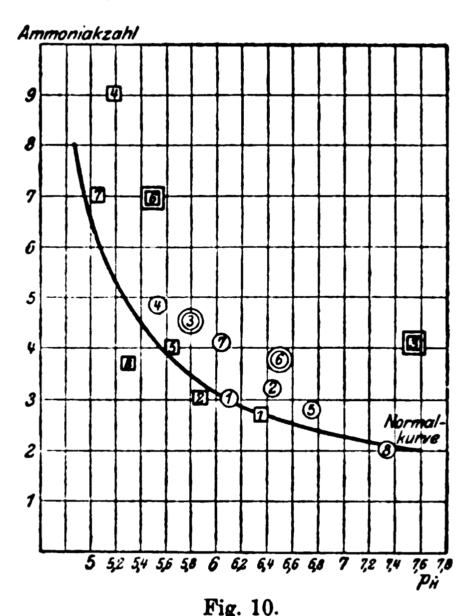


Fig. 10.

K. A. H. Wirkung der forcierten Arbeit.

○ Am 23./6. fastend. ◎ Arbeit.

□ Am 24./6., nach dem Frühstück ▣ Arbeit.

(Die Zahlen entsprechen der Reihenfolge der halbstündlichen Bestimmungen.)

kohlenhydrathaltigen Frühstück angefangen; in diesem Falle waren die Ausschläge am unzweideutigsten. Mit J., der von der Arbeit viel weniger ermüdet war, hatte der Versuch qualitativ dasselbe Ergebnis, jedoch weniger ausgeprägt. Bei allen 3 Versuchen war die N-Ausscheidung sowie auch die Harnmenge pro halbe Stunde praktisch konstant und somit von der Arbeitsleistung unbeeinflußt. Die Variationen der Ammoniakzahlen sind demnach ausschließlich dem variierenden Ammoniakgehalt des Harns zuzuschreiben.

Der erhöhende Einfluß kurzdauernder, exzessiver Muskelarbeit auf die reduzierte Ammoniakzahl war somit bei den wenigen vorgenommenen Versuchen unverkennbar. Anders scheinen die Verhältnisse bei Muskelarbeit von längerer Dauer zu liegen. Bei einer 8tägigen Untersuchung mit J. wurde täglich 2 Stunden lang am Fahrradergostaten eine moderate, nicht gerade anstrengende, doch immerhin ansehnliche Arbeit geleistet, ohne daß an der Größe der reduzierten Ammoniakzahl irgendeine sichere Änderung konstatiert werden konnte. Die Arbeitsacidose, die man wohl mit Recht aus der Milchsäureerzeugung bei Muskelarbeit ableitet, unterscheidet sich somit in charakterischer Weise von der „echten“ Naunynschen Acidose, wo eine Hyperproduktion von Ketostoffen — β-Oxybuttersäure, Acetessigsäure, Aceton — vorliegt und wo (s. o.) eine bleibende Erhöhung der reduzierten Ammoniakzahl vorgefunden wird.

Wie soll man sich den Vorgang vorstellen, wodurch normalerweise in einem Exkret wie dem Harn zwischen der aktuellen Reaktion desselben und dem prozentualen Ammoniakanteil des Stickstoffwechsels ein gesetzmäßiges Verhältnis, durch eine einfache Kurve ausgedrückt, besteht?

Am einfachsten wäre dieser merkwürdige Befund zu erklären, falls die Ammoniaksalze des Stoffwechsels, in den Harn hineinbefördert, die Reaktion desselben nach der sauren

Tabelle VI.

	mg NH_3-N in 100 ccm	mg N in 1 ccm	Amm.-Z.	p_H.
1. Harn ohne Zusatz	38,0	8,8	4,3	5,45
95 ccm Harn + 5 ccm NH_4Cl	60,0	9,0	6,7	5,45
90 „ „ + 10 „ „	83,0	9,2	9,0	5,45
2. Harn ohne Zusatz	32,5	8,1	4,0	5,84
95 ccm Harn + 5 ccm NH_4Cl	55,5	8,3	6,7	5,90
90 „ „ + 10 „ „	78,5	8,5	9,2	5,89
3. Harn ohne Zusatz	27,0	6,65	4,1	5,82
95 ccm Harn + 5 ccm NH_4Cl	50,0	6,85	7,3	5,82
90 „ „ + 10 „ „	73,0	7,05	10,3	5,79
4. Harn ohne Zusatz	15,5	7,05	2,2	7,02
95 ccm Harn + 5 ccm NH_4Cl	38,0	7,2	5,3	7,14
90 „ „ + 10 „ „	61,0	7,4	8,2	7,16

Seite hin verschöben. In Betracht der pufferreichen Lösung, um die es sich handelt, würde man a priori eine solche Vermutung als recht unwahrscheinlich betrachten. Doch habe ich die Möglichkeit einer experimentellen Prüfung unterworfen, und zwar durch eine Versetzung des Harns mit Ammoniumchlorid, d. h. mit dem Ammoniumsalz einer starken Säure, womit am ehesten eine Säuerung des Harns zu erzielen wäre. Es wurde eine etwa $2\,^0/_0$ige Ammoniumchloridlösung benutzt und 95 bzw. 90 ccm Harn mit 5 bzw. 10 ccm der Lösung versetzt.

Wie man aus der Tabelle VI auf Seite 43 ersieht, ist die künstliche Erhöhung der Ammoniakzahl des Harns praktisch ohne Bedeutung für die $C_{H^\cdot}$ desselben. Bei Harn Nr. 4 mit dem $p_{H^\cdot} = 7$ ist vielleicht eine kleine Wirkung, aber nach der alkalischen Seite hin, zu beobachten. Die Möglichkeit einer Säuerung des Harns durch Beimengung von Ammoniaksalzen ist vorderhand unwahrscheinlich und experimentell ausgeschlossen.

Die im Prinzip entgegengesetzte Möglichkeit, daß nämlich durch Diffusion aus dem Blute eine der Harnacidität entsprechende Anreicherung des Harns mit freiem Ammoniak stattfinden sollte, läßt sich ebenfalls abweisen. Zwar findet sich im Blute, d. h. bei dem $p_{H^\cdot} = 7{,}4$, das Ammoniak zu einem sehr kleinen Bruchteile — etwa $0{,}5\,^0/_0$ — in freiem Zustande, während bei der durchschnittlichen Harnreaktion — $p_{H^\cdot}$ etwa 5,8 — kein freies Ammoniak im Harn vorkommt. Unter solchen Umständen sind jedenfalls die physikalischen Vorbedingungen einer einfachen Ammoniakdiffusion durch die Nierenepithelien hinaus gegeben. Aber bei einer Harnreaktion, die alkalischer ist als die Reaktion des Blutes — und solche Reaktionen kommen, wie oben gezeigt wurde, recht oft vor —, sollte dann kein Übergang von Ammoniak mehr stattfinden. Das stimmt aber mit den Tatsachen (s. o.) nicht überein. Die Kurven (siehe Fig. 6) zeigen absolut keine Neigung, bei der Harnreaktion $p_{H^\cdot} = 7{,}4$ bis 7,6 plötzlich abzufallen.

Die Tatsachen machen somit für die Beförderung des Ammoniaks die Annahme eines Sekretionsprozesses zwingend notwendig.

Müssen wir also anerkennen, daß das gesetzmäßige Verhältnis zwischen p_{H} und Ammoniakzahl des Harns nicht in der Weise zu erklären ist, daß die eine Erscheinung als Ursache, die andere als Wirkung aufgefaßt werden kann, so bleibt wohl nur die Annahme übrig, daß die beiden Erscheinungen assoziierte Folgezustände einer gemeinsamen Ursache darstellen. Geht man von der schon bewiesenen Voraussetzung aus, daß der Organismus sich durch mehrere gleichzeitig in Anwendung gebrachte Mittel gegen Änderungen der Reaktion des Blutes und der Gewebe schützt, so wird die wahrscheinliche, allerdings hypothetische Erklärung der hier besprochenen Gesetzmäßigkeit die sein, daß eine angefangene Verschiebung aus der optimalen Blutreaktion sofort zwei kompensatorische Prozesse auslöst: erstens einen abgeänderten Verlauf des intermediären Stickstoffwechsels mit Bevorzugung bzw. Zurückdrängung der Ammoniakbildung, zweitens eine abgeänderte Ausscheidung durch die Nieren von sauren bzw. alkalischen Blutbestandteilen. Der geregelte Verlauf dieser beiden kompensatorischen Prozesse findet in der hyperbolischen Ammoniakzahlkurve seinen normalen Ausdruck. Pathologische Abweichungen kommen vor (s. o.); daß sie so verhältnismäßig selten zu sein scheinen, deutet auf die Wichtigkeit des Regulationsmechanismus hin.

Ich muß demnach, zunächst in Übereinstimmung mit Münzers Anschauungen, folgern, daß bei dem omnivoren Menschen die erste Schranke gegen eine drohende Demineralisation bei übermäßiger Säureanhäufung von der auf das feinste regulierten Ammoniakproduktion gesetzt wird. Erst wenn diese Schranke gebrochen ist, wird die Natriumreserve des Blutes in Angriff genommen, und die Regulation durch die Atmung, die zu jeder Zeit besteht, schafft sich den leicht wahrnehmbaren Ausdruck, daß die alveolare CO_2-Spannung absinkt.

Mit der Feststellung der individuellen Ammoniakzahlkurve ist die Bedeutung der H-Ionen für die Ammoniakerzeugung klargelegt. Unter welchen Bedingungen kommt nun eine Verschiebung dieser Kurve nach oben und nach unten vor?

Diese Frage kann vorderhand nicht mit Sicherheit beantwortet werden. In einer Gruppe von Zuständen, die durch

eine erhöhte Acetonbildung gekennzeichnet ist (Hunger, Gravidität, Fieber, acidotischer Diabetes), sahen wir eine Verschiebung der Ammoniakzahlkurve nach oben — eine Erhöhung der reduzierten Ammoniakzahl — regelmäßig mit einer Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung verbunden vorkommen. Bei Sauerstoffmangel des Organismus ist aber bei niedriger alveolarer CO_2-Spannung auch die reduzierte Ammoniakzahl erniedrigt. In beiden Fällen liegt unzweifelhaft eine Herabsetzung der Alkalireserve vor.

Diese nur anscheinend widersprechenden Tatsachen lassen sich unter einen einheitlichen Gesichtspunkt bringen, wenn man die einer Prüfung zugängliche Annahme macht, daß bestimmte intermediäre Stoffwechselprodukte, mutmaßlich die Acetonstoffe (und die Milchsäure), die Ammoniakbildung aus Albuminstoffen spezifisch beschleunigen. Inwieweit diese hypothetische Erklärung bei Sauerstoffmangel des Organismus zutrifft — dle physiologische Acetonbildung sollte hier eine Erniedrigung erleiden —, das werden weitere, in Angriff genommene Untersuchungen lehren.

Die vermutete spezifische Beschleunigung der Ammoniakbildung seitens der Acetonstoffe kann von verschiedener Größenordnung sein. Ist sie individuell verhältnismäßig klein, so werden die Stoffwechselsäuren, die nicht vom NH_3 gebunden werden, durch die fixen Alkalien des Blutes neutralisiert, es tritt eine Na-Verarmung des Blutes ein und die alveolare CO_2-Spannung sinkt. Ist sie aber verhältnismäßig groß, so kann der Fall eintreten, daß die Acidose durch die gesteigerte NH_3-Bildung sozusagen überkompensiert und die Reaktion des Blutes abnorm alkalisch wird. Daß diese Möglichkeit nicht nur theoretisch denkbar, sondern auch praktisch realisabel ist, werde ich an anderer Stelle zu beweisen suchen.

Stellen sich, auf der anderen Seite, Stoffwechselbedingungen ein, die zu einer spezifischen Minderproduktion der endogenen Base, des Ammoniaks, führen (Sauerstoffmangel), so bewirkt die Neutralitätsregulation des Organismus eine vermehrte Bindung und Ausscheidung der fixen Alkalien, also wieder eine Na-Verarmung des Blutes und eine Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung, jetzt aber auf ganz anderem Wege entstanden.

Eine Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung

deutet somit auf eine Na-Verarmung des Blutes, die auf mehrere Weisen entstehen kann.

Die Ammoniakproduktion des Menschen ist von der Ausscheidung von H-Ionen durch die Nieren gesetzmäßig abhängig. Mit steigendem p_H des Harns fällt die Ammoniakzahl desselben nach einer hyperbolischen Kurve. Die Größe der Ammoniakzahl kann demnach nur in Verbindung mit der aktuellen Reaktion des Harns richtig verwertet werden.

Die „reduzierte Ammoniakzahl" des Harns (die Ammoniakzahl bei dem p_H 5,8) ist für die Beurteilung der Alkalireserve des Blutes nicht ohne weiteres verwertbar, sondern steigt und fällt infolge innerer Stoffwechselbedingungen, wahrscheinlich mit der Neigung des Organismus, Acetonstoffe und Milchsäure zu bilden. Bei dem Einsetzen einer Naunynschen Acidose wird die reduzierte Ammoniakzahl immer erhöht.

Zur experimentellen Physiologie des Höhenklimas.

V. Die „reduzierte Ammoniakzahl" des Harns bei Sauerstoffmangel.

Von

K. A. Hasselbalch.

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 8. Januar 1916.)

Mit 2 Figuren im Text.

In der vorangehenden Abhandlung[1]) habe ich gezeigt, daß beim Menschen die Ammoniakproduktion und die Ausscheidung von H-Ionen durch die Nieren innig verknüpft sind, so daß die „Ammoniakzahl" $\left(\text{d. h. } \frac{NH_3\text{-}N}{N} \cdot 100\right)$ einer Harnportion von der aktuellen Reaktion derselben in einfacher Weise abhängt. Die bei $p_{H^\cdot} = 5{,}8$ bestehende Ammoniakzahl des Harns habe ich als die „reduzierte Ammoniakzahl" bezeichnet, und ich konnte konstatieren, daß diese Zahl, die gewöhnlich von großer, individueller Konstanz ist, bei dem Eintreffen eines echten acidotischen Zustandes — Hunger, Fieber, Gravidität, diabetische Acidosis, forcierte Muskelarbeit — regelmäßig erhöht wird.

Nachdem ich mit Lindhard[2]) nachgewiesen habe, daß bei der „relativen Acidose" des Höhenklimas die Ammoniakproduktion des Menschen nicht erhöht, sondern sogar recht ansehnlich erniedrigt wird, fragt es sich, ob bei Sauerstoffmangel die reduzierte Ammoniakzahl des Harns erniedrigt ist. Die Antwort ist eigentlich im voraus gegeben, denn die vorliegenden Beobachtungen zeigen auf das deutlichste, daß bei hin-

---

[1]) Diese Zeitschr. 74, 18, 1916.

[2]) Diese Zeitschr. 68, 295, 1915 und 74, 1, 1916.

reichend langer Versuchsdauer, d. h. nach erreichter Akklimatisation an den niedrigen Sauerstoffdruck der $p_{H^{\cdot}}$ des Harns, der zu Anfang immer ansteigt, wieder normal wird, während die Ammoniakzahl des Tagesharns, solange der niedrige Sauerstoffdruck besteht, subnormal ist und bleibt.

Nichtsdestoweniger habe ich es der Mühe wert erachtet, nachzuforschen, ob die in der vorigen Abhandlung beschriebene feine Regulation der Ammoniakproduktion auch bei Sauerstoffmangel besteht, jetzt nur auf ein niedrigeres Niveau herabgedrückt. Ferner boten die ersten Tage bei dem reduzierten Luftdruck eine erwünschte Gelegenheit dar, den Einfluß der Bergkrankheit auf die untersuchte Funktion zu studieren.

Der Versuch wurde mit den beiden Versuchspersonen V. M. und C. A. L., die auch bei früheren Kabinettversuchen Objekte waren, vorgenommen. Es wurden im Kabinett 5 Tage bei ca. 760 mm Luftdruck, danach 4 Tage bei ca. 500 mm, und 4 Tage wieder bei ca. 760 mm verbracht. V. M. war während der ersten 2 Tage bei 500 mm Luftdruck sehr bergkrank (Cyanose, Schlaflosigkeit, Kopfschmerzen, Herzklopfen, Appetitmangel); C. A. L. schlief die erste Nacht recht mangelhaft und war am Morgen danach etwas cyanotisch, wurde aber im Laufe der Vormittagsstunden vollkommen normal und blieb es auch später. Während der beiden letzten Tage bei 500 mm Luftdruck war für die beiden Versuchspersonen der Zustand als annäherungsweise akklimatisiert zu bezeichnen, was auch aus der Betrachtung der alveolaren CO_2-Spannungen hervorgeht:

Tabelle I.

Alv. CO_2		V. M.	Mittel	C. A. L.	Mittel
Bar. ca. 760 mm	Am 29. V.	37,9	38,3	35,6	35,9
	„ 30. V.	37,3		35,0	
	„ 31. V.	38,3		35,4	
	„ 1. VI.	38,9		36,7	
	„ 2. VI.	39,1		37,1	
Bar. ca. 500 mm	„ 3. VI.	34,9		32,0	
	„ 4. VI.	31,6		29,9	
	„ 5. VI.	30,2		27,4	
	„ 6. VI.	29,4		27,5	
Bar. ca. 760 mm	„ 7. VI.	32,0		33,1	
	„ 8. VI.	34,2		34,0	
	„ 9. VI.	34,3		33,5	
	„ 10. VI.	34,7		33,4	

Der Harn wurde an den für diese Untersuchung bestimmten Tagen 5 mal täglich (um 8 M., 12, 4, 7 und 10 Uhr abends) restlos gesammelt und in den einzelnen Portionen das Ammoniak, der Totalstickstoff und die C_H. bestimmt. Für V. M. war im voraus die individuelle Ammoniakzahlkurve bei 760 mm Totaldruck bekannt (8 Bestimmungen[1]) am 17. III. 1915), und sie wurde durch 10 neue Bestimmungen (am 29. und 30. V. 1915) verifiziert. Für C. A. L. wurden im Laufe von $3^1/_2$ Tagen bei 760 mm Luftdruck 18 Bestimmungen durchgeführt. Bei 500 mm wurden für die beiden Versuchspersonen täglich alle 5 Bestimmungen gemacht.

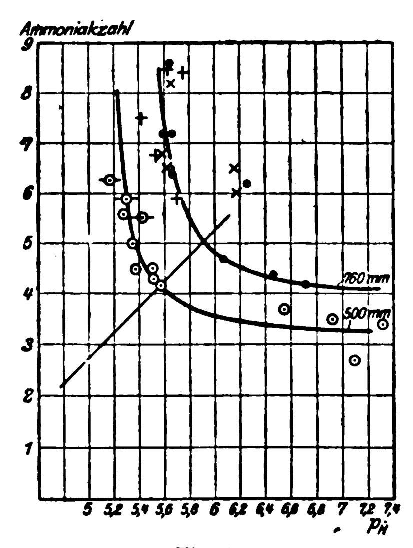


Fig. 1.

V. M. ● 17./3. ✖ 29./5. ✚ 30./5. } 760 mm Luftdruck
⊙ 5./6. und 6./6. 500 mm Luftdruck

Fig. 1 und Fig. 2 zeigen die graphische Darstellung der Versuchsergebnisse. Die obere Kurve illustriert den Zustand des Ammoniakstoffwechsels bei Normaldruck, die untere entstammt den beiden letzten Tagen bei 500 mm Luftdruck, als die Versuchspersonen sich beinahe akklimatisiert hatten.

An den Figuren lassen sich die reduzierten Ammoniakzahlen ablesen:

	Bei 760 mm	Bei 500 mm	Prozentische Erniedrigung bei 500 mm
V. M.	5,5	3,7	33
C. A. L. . . .	4,2	2,8	33

Die prozentische Erniedrigung der reduzierten Ammoniakzahl, die in beiden Fällen 33 % des Ausgangswertes beträgt,

[1]) Diese Zeitschr. 74, 31, 1916.

hat die Bedeutung, in einer Zahl die Herabsetzung der Ammoniakproduktion bei 500 mm Luftdruck auszudrücken. Denkt man sich, daß bei 760 und bei 500 mm Luftdruck die tägliche N-Ausscheidung genau dieselbe ist, und daß die durchschnittliche $C_{H^{\cdot}}$ des Harns in beiden Fällen genau $10^{-5,8}$ beträgt, so ist bei 500 mm Luftdruck die absolute Ammoniakproduktion um 33% erniedrigt.

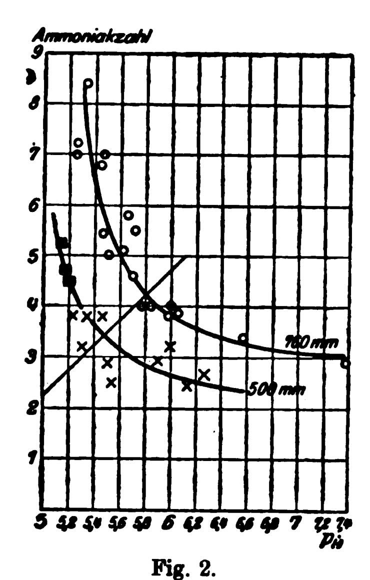


Fig. 2.

C. A. L. { ○ Bei 760 mm Luftdruck
× „ 500 „ „

Die untenstehende summarische Behandlung der Versuchsergebnisse (Tab. II) gibt ein viel weniger übersichtliches Bild der vom Sauerstoffmangel bewirkten Stoffwechseländerung. Nur im Falle C. A. L. ist die durchschnittliche Reaktion des Harns der beiden Perioden ungefähr die gleiche, und die Erniedrigung

Tabelle II.

		p_H des Harns im Durchschnittt	N pro Tag g	NH_3-N pro Tag g	Amm.-Zahl des Tags	Erniedrigung %
V. M.	Am 29. V. und 30. V., Bar. 760 mm . . .	5,72	12,5	0,92	7,4	43
	Am 5. VI. und 6. VI., Bar. 500 mm . . .	6,05	12,8	0,54	4,2	
C. A. L.	Am 29. V. und 30. V., Bar. 760 mm . . .	5,86	18,2	0,86	4,7	34
	Am 5. VI. und 6. VI., Bar. 500 mm . . .	5,67	16,7	0,51	3,1	

der relativen Ammoniakproduktion bei Sauerstoffmangel deshalb von demselben Betrag: 34%, wie von den Kurven, d. h. von den reduzierten Ammoniakzahlen, angegeben.

Die durch Sauerstoffmangel bewirkte Herabsetzung der Ammoniakproduktion wird nach dem Aufhören der Druckreduktion keineswegs sofort beseitigt, im Gegenteil, es läßt sich

eine deutliche **Nachwirkung** des **Sauerstoffmangels** demonstrieren. Die drei speziell markierten Punkte (Fig. 1 und 2) im linken Aste der unteren Kurve entsprechen den ersten drei Bestimmungen (um 12 Uhr mitt., 4 Uhr und 7 Uhr nachm. am 6. VI.) nach der Wiederherstellung des Normaldrucks (um 9 Uhr vorm.); sie gehören vollkommen der unteren Kurve an. Die während der folgenden Tage bei Normaldruck gemachten Bestimmungen sind auf den Figuren nicht angegeben. **Sogar 3 bis 4 Tage später ist die Nachwirkung noch zu verspüren**, was die untenstehenden Einzelergebnisse bezeugen können: die Bestimmungen fallen durchgehends etwas **unterhalb** der oberen Kurve, zeigen negative Abweichungen des p_H.

Tabelle III.

Nachwirkung des Sauerstoffmangels.

	Ammoniak-Zahl	p_H gefunden	p_H aus der Normalkurve berechnet	Abweichung
V. M., am 9. VI. . .	7,0	5,67	5,64	0
	5,9	5,40	5,73	−0,3
	6,2	5,36	5,70	−0,3
	6,7	5,46	5,65	−0,2
	6,3	5,53	5,68	−0,2
C. A. L, am 9. VI. .	6,2	5,25	5,40	−0,15
	5,3	5,33	5,52	−0,2
	6,6	5,25	5,38	−0,1
	5,6	5,36	5,50	−0,1
	5,7	5,25	5,45	−0,2

Auch die alveolare CO_2-Spannung erreicht, wie aus der Betrachtung der Tabelle I hervorgeht und wie übrigens aus vielen früheren Beobachtungen längst bekannt ist, im Laufe der Nachperiode nicht die ursprünglichen Werte.

Es bleibt uns nur noch übrig, die Verhältnisse während der zwei ersten Tage bei 500 mm Luftdruck näher zu betrachten. Wir erinnern daran, daß während dieser beiden Tage V.M. sehr bergkrank, C.A.L. nur andeutungsweise bergkrank war.

In der beistehenden Zusammenstellung (Tab. IV) sind, aus den ersten Tagen nach angefangener Druckreduktion, die beobachteten Werte des p_H und der Ammoniakzahl der Reihen-

folge nach aufgeführt, außerdem die Ammoniakzahlen, die an den unteren Kurven (Fig. 1 und 2) bei dem betreffenden p_H abzulesen sind. Die „Abweichungen" (letzte Spalte der Tabelle) geben den zahlenmäßigen Ausdruck der Schnelligkeit und Voll-

Tabelle IV.

Ammoniakzahlen während der Akklimatisierungstage. Druckreduktion bis 500 mm 3 Stunden vor der ersten Bestimmung vollzogen.

	p_H	Ammoniakzahl gefunden	Ammoniakzahl nach der Kurve berechnet	Abweichung
V. M., am 3. VI. . .	6,82	4,7	3,3	+ 1,4
	7,03	4,3	3,3	+ 1,0
	7,91	1,7	3,2	− 1,5
	7,48	2,3	3,3	− 1,0
	6,48	4,5	3,4	+ 1,1
am 4. VI. . .	7,23	?	3,3	—
	7,38	4,7	3,3	+ 1,4
	6,30	6,4	3,4	+ 3,0
	6,74	5,5	3,3	+ 2,2
	7,10	3,4	3,3	+ 0,1
am 5. VI. . .	6,57	3,7	3,4	+ 0,3
	7,33	3,4	3,3	+ 0,1
	7,10	2,7	3,3	− 0,6
	6,92	3,5	3,3	+ 0,2
	5,56	4,2	4,2	0
C. A. L., am 3. VI. .	5,69	6,0	3,0	+ 3,0
	6,47	4,4	2,4	+ 2,0
	6,53	3,7	2,4	+ 1,3
	6,32	3,2	2,5	+ 0,7
	5,80	3,9	2,9	+ 1,0
am 4. VI. .	5,63	4,1	3,1	+ 1,0
	7,05	2,8	2,3	+ 0,5
	6,17	2,7	2,5	+ 0,2
	6,51	1,9	2,4	− 0,5
	5,92	2,6	2,7	− 0,1
am 5. VI. .	5,45	3,8	3,4	+ 0,4
	6,00	3,2	2,7	+ 0,5
	6,14	2,5	2,6	− 0,1
	6,26	2,7	2,5	+ 0,2
	5,55	2,5	3,3	− 0,8

kommenheit, womit der Organismus sich dem neuen, niedrigen Sauerstoffdruck anpaßt. Es ist augenfällig, daß der bergkranke V. M. sich viel langsamer als C. A. L. — um etwa einen Tag später — in der niedrigen Ammoniakzahlkurve orientiert.

Während C. A. L. — man könnte sagen: systematisch — im Laufe des 1. Tages seine Kurve abwärts drückt, um zu Anfang des 2. Tages vollkommen orientiert zu sein, so wechseln bei V. M. am 1. Tage positive und negative Abweichungen, im Laufe des 2. Tages werden sehr große positive Abweichungen vorgefunden, und erst mit dem Anfang des 3. Tages ist V. M. bleibend orientiert — und gleichzeitig an den niedrigen Sauerstoffdruck praktisch akklimatisiert.

Auch die Pulsfrequenz der beiden Versuchspersonen trägt davon Zeugnis, daß V. M. gegen die Sauerstoffarmut der Atmosphäre viel empfindlicher ist als C. A. L.

Pulsfrequenz (am Morgen nüchtern im Bette)

	760 mm					500 mm			
V. M.	55	52	53	57	53	107	102	89	78
C. A. L.	59	56	53	60	60	75	82	74	68

Man bemerke die abnorm große Pulsfrequenz bei V. M. an den beiden Tagen der Bergkrankkeit; bei C. A. L. ist etwas ähnliches nur angedeutet.

Es kann, dem Obenstehenden zufolge, kaum bezweifelt werden, daß die Herabsetzung der Ammoniakproduktion als ein für den an Sauerstoffmangel leidenden Menschen heilbringender Prozeß zu bezeichnen ist. Es fällt nicht schwer, sich vorzustellen, wie diese heilbringende Wirkung zustande kommen kann; ob diese Vermutung der Wahrheit entspricht, ist eine Frage der künftigen Forschung. Die physiologische Notwendigkeit, eine bestimmte $C_{H^\cdot}$ des Blutes aufrecht zu erhalten, bedingt bei der beschränkten Fähigkeit des Organismus, Ammoniak abzuspalten, eine vermehrte Bindung — und Ausscheidung — der fixen Basen des Blutes, besonders des Natriums. Das Blut muß demnach an $NaHCO_3$ verarmen, und eine unveränderte $C_{H^\cdot}$ des Blutes kann jetzt nur durch eine vermehrte Lüftung desselben, d. h. durch eine herabgesetzte CO_2-Spannung des Blutes erreicht werden. Wie oft hervorgehoben, bedeutet aber eine Herabsetzung der alveolaren CO_2-Spannung um 10 mm eine Erhöhung der alveolaren O_2-Spannung um etwa 12 mm, was bei der im voraus niedrigen O_2-Spannung des Blutes für die Sauerstoffversorgung der Gewebe — und besonders des

Zentralnervensystems — von der allergrößten Bedeutung sein kann.

Eine Untersuchung über die Größe der reduzierten Ammoniakzahl im Harn bei Herzkrankheiten ist im Gange.

Zusammenfassung.

Die auf konstante Reaktion ($p_H = 5,8$) „reduzierte" Ammoniakzahl des Harns ist bei Sauerstoffarmut der Atmosphäre herabgesetzt. Die Erniedrigung stellt sich im Laufe von Tagen stufenweise ein, wie auch die Erniedrigung der alveolaren CO_2-Spannung, und bleibt wie diese einige Tage nach dem Aufhören des Sauerstoffmangels bestehen.

Die „relative Acidose" des Höhenklimas ist mit großer Wahrscheinlichkeit durch diese Minderproduktion von Ammoniak zu erklären.

Die „reduzierte" und die „regulierte" Wasserstoffzahl des Blutes.

Von

K. A. Hasselbalch.

(Aus dem Laboratorium des Finsen-Instituts, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 8. Januar 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Das Auftreten großer Mengen nichtverbrennender organischer Säuren im Stoffwechsel wurde seinerzeit von Naunyn mit dem Namen „Acidosis" bezeichnet. Mit Bezug auf die Menge der ausgeschiedenen sauren Produkte steht in der menschlichen Pathologie die Acetonkörper-Acidosis in erster Reihe, in zweiter kommt die Milchsäure-Acidosis[1]).

Nun hat aber während des letzten Jahrzehntes die Anwendung physikalisch-chemischer Methoden und Gesichtspunkte auf die Physiologie des Blutes dem Ausdruck „Acidosis" einen erweiterten Inhalt verliehen. Vielfach wird das Blut „acidotisch" genannt, wenn bei gegebener CO_2-Spannung seine aktuelle Reaktion weniger alkalisch ist als normal, gleichviel ob diese „Säuerung" durch Säureüberschuß oder durch Basendefizit entstanden ist.

Diese Begriffsverschiebung tritt z. B. durch die folgende Definition von Barcroft[2]) klar hervor:

„Here let me explain my use of the word acidosis in reference to the blood. In the following pages it will signify the appearance of acids (exclusive of CO_2), abnormal in kind or perhaps only in quantity in the blood or even a decrease

---

[1]) Siehe Magnus-Levy in v. Noordens Pathologie des Stoffwechsels, 2. Aufl., 1906, I, S. 189.

[2]) The respiratory function of the blood. Cambridge 1914, S. 227

in the bases present[1]). By acidosis then I mean an increase of acid relative to basic radicles in the blood, CO_2 not being considered. But by the term acidosis I will signify nothing concerning the final ‚reaction' of the blood, which is largely regulated by the amount of CO_2 present."

Beim ersten Anblick scheint die hier geschehene Ausdehnung des Begriffs der „Acidose" unbedenklich. Auch ich habe mich z. B. des Ausdrucks „Höhenklima-Acidose" vielfach bedient, obschon der Nachweis einer Mehrproduktion organischer Säuren bei Sauerstoffmangel allein[2]) niemals gelungen ist, während ich dagegen allen Grund habe, bei Sauerstoffmangel eine Minderproduktion der endogenen Base, des Ammoniaks, für die Entstehung der „relativen Acidose" verantwortlich zu machen[3]).

Die verfeinerte Einsicht in den Mechanismus der Neutralitätsregulation, die wir der Arbeit der späteren Jahre verdanken, läßt nun aber gewisse Mängel der neuen, erweiterten Definition einer „Acidose" immer schärfer hervortreten. Der Kürze halber werde ich in der Folge, jedoch nur vorläufig, die Ausdrücke „Acidose durch Säureüberschuß" und „Acidose durch Basendefizit" benutzen.

A. Es liegen Beobachtungen vor, die kaum anders gedeutet werden können, als daß eine Naunynsche „Acidose durch Säureüberschuß" das Blut nicht saurer, sondern alkalischer als normal gemacht hat. Natürlich sind „Acidose" und „Acidität" nicht synonyme Begriffe, doch muß, bei der gemeinsamen Ableitung der Wörter, ein solches Zusammentreffen verwirrend und befremdend wirken: die „Acidose" sollte die „Acidität" herabgesetzt haben!

Die Beobachtungen, auf die ich abziele, stammen teils von Barcroft, teils von mir, teils von Gammeltoft und mir.

Barcroft[4]) benutzt zur Schätzung der aktuellen Reaktion des Blutes den Umstand, daß die O_2-Bindung des Blutes bei

---

[1]) Hervorhebung von Hasselbalch.

[2]) Durch Muskelarbeit wird bei Sauerstoffmangel eine Milchsäure-Acidose viel leichter erzeugt als bei Sauerstoffüberschuß (Barcroft, l. c. S. 270).

[3]) Siehe die vorangehende Arbeit.

[4]) l. c. S. 231.

konstantem O_2-Druck ganz hauptsächlich durch die H-Ionenkonzentration (die C_H.) bestimmt ist. Wenn bei normalem Hämoglobingehalt das kreisende Blut nur eine subnormale O_2-Menge zu binden vermag, — wenn es „meionektisch" ist — so ist die C_H. des Blutes erhöht, wenn es eine supernormale O_2-Menge aufnehmen kann — „pleonektisches" Blut —, ist die C_H. erniedrigt.

Bei 6 Versuchen, wo Barcroft die Wirkungen einer Kohlenhydratentziehung untersuchte und wo die Existenz einer Naunynschen Acidose durch den Nachweis großer Mengen von β-Oxybuttersäure im Harn sichergestellt wurde, war in 4 Fällen die C_H. des arteriellen Blutes unverändert, in 2 Fällen aber war bei alveolarer CO_2-Spannung die C_H. des arteriellen Blutes meßbar erniedrigt. Der eine Fall wird mit Zahlenbeleg mitgeteilt, und der Ausschlag fällt weit außerhalb der Fehlergrenzen der Methode. Die „Acidose" hat unzweifelhaft die „Acidität" des Blutes herabgesetzt.

Die zweite Beobachtung betrifft einen Zustand, der wohl jetzt, seit den Untersuchungen von Porges und Novak[1]), unbedenklich als Naunynsche Acidose durch Säurenüberschuß betrachtet werden darf, nämlich die Gravidität. Gammeltoft und ich[2]) fanden, daß bei 9 graviden Weibern die C_H. des Blutes bei 40 mm CO_2-Spannung erhöht, bei der faktisch im Blute bestehenden CO_2-Spannung aber im Durchschnitt aller Fälle normal war, ganz wie bei den 4 Barcroftschen Fällen von Kohlenhydratentziehung. In einem Fall[3]) fanden wir jedoch bei einer Gravida ganz unbedingt eine Erniedrigung der C_H. des arteriellen Blutes. Dazu gesellt sich noch der von mir[4]) früher konstatierte Fall von stark erhöhter Erregbarkeit des Atemzentrums während der Gravidität. Wenn es nämlich die C_H. des Blutes ist, die die Atmung steuert, so muß im arteriellen Blute die C_H. immer die gleiche bleiben, solange die Erregbarkeit des Atemzentrums unverändert ist. Eine erhöhte Erregbarkeit dieses Zentrums muß aber die Einstellung auf eine niedrigere C_H. im arteriellen Blute bewirken,

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1911, Nr. 39.
[2]) Diese Zeitschr. 68, 238, 1915.
[3]) l. c. S. 240.
[4]) Skand. Arch. f. Physiol. 27, 1912.

und so darf man umgekehrt aus einer erhöhten Erregbarkeit des Atemzentrums auf eine herabgesetzte C_H. des Blutes schließen.

Es liegen also wieder hier 2 wohlkonstatierte Fälle vor, wo die „Acidose“ die „Acidität“ des Blutes herabgesetzt hat.

Barcroft[1]) erwähnt, daß in dem oben zitierten Fall von „pleonektischem“ Blute während der Fleisch-Fett-Diät die Versuchsperson anämisch wurde. Es ist daher von Interesse, daß auch bei meiner oben erwähnten graviden Versuchsperson mit der erhöhten Erregbarkeit des Atemzentrums[2]) eine sogar recht bedeutende Anämie vorgefunden wurde: der Hämoglobinprozentsatz betrug während der letzten Schwangerschaftsmonate 55 bis 60, 4 Wochen nach der Entbindung dagegen 80. Dieser Befund blieb damals unerwähnt. Bei den 9 graviden Weibern[3]) war der Hämaglobinprozentsatz im Durchschnitt 97, bei denselben Frauen nach der Entbindung 98, also gleich groß.

B. Während bei jeder bisher untersuchten Form der „Acidose durch Säurenüberschuß“ die Ammoniakbildung des Organismus nicht nur — wie immer — von der Ausscheidung der H-Ionen durch die Nieren gesetzmäßig abhängt, sondern spezifisch erhöht ist, so ist die „Höhenklima-Acidose“ durch eine spezifische Erniedrigung der Ammoniakbildung gekennzeichnet. Wie ich an anderem Orte[4]) entwickelt habe, ist dieser Umstand für die Entstehung einer „Acidose durch Basendefizit“ verwertbar. Je mehr wir uns aber der endgültigen Verifizierung eines solchen Zustandes nähern, der ja von verschiedenen Forschern längst vermutet wurde, um so hemmender und unzutreffender wirkt der Selbstwiderspruch des Ausdruckes „Acidose durch Basendefizit“.

Soweit ich den augenblicklichen Stand und die kommende Entwickelung der biologischen Forschung überblicken kann, würde eine Beschränkung des Begriffes „Acidose“ auf die ursprüngliche Fassung des Wortes wohltätig sein. „Acidose“ ist das Auftreten einer ungewöhnlich großen Menge Salze nichtverbrennender, organischer Säuren im Blute (bzw. im Harn).

---

[1]) l. c. S. 235.
[2]) Skand. Arch. f. Physiol. 27, 1912.
[3]) Hasselbalch und Gammeltoft, l. c. S. 238.
[4]) Vorangehende Abhandlung.

Sobald wir uns aber über das Säuren-Basen-Gleichgewicht, über das Verhältnis zwischen sauren und basischen Blutbestandteilen zu äußern wünschen, würde ich die direkte Angabe der Größe, auf die es hier ankommt, nämlich der Konzentration von H-Ionen, angezeigt finden.

Michaelis[1]) hat für das unbequeme Wort Wasserstoffionenkonzentration die gute Bezeichnung Wasserstoffzahl vorgeschlagen. Will man nun drei Blutproben I, II und III (Fig. 1), wovon I die an und für sich sauerste, III die alka-

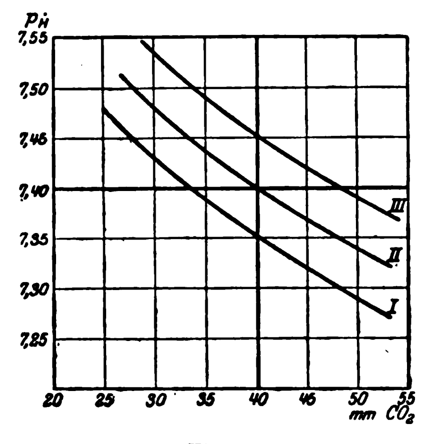


Fig. 1.

lischste ist, vergleichen, so muß die Vergleichung bei einer fixierten CO_2-Spannung vorgenommen werden. Hierzu wird ganz natürlich der abgerundete Durchschnittswert der alveolaren CO_2-Spannung des Menschen, 40 mm CO_2, gewählt. Die auf 40 mm CO_2 „reduzierte Wasserstoffzahl" der drei Blutproben ist somit verschieden, am größten bei I, am kleinsten bei III. Der „reduzierte $p_{H^\cdot}$" ist gegebenenfalls für I 7,35, für II 7,40, für III 7,45.

Durch die Atmungsregulation kann nun in den 3 Fällen eine derart regulierte CO_2-Spannung des arteriellen Blutes hervorgebracht werden, daß die Wasserstoffzahl in allen Fällen z. B. gleich groß, $p_{H^\cdot} = 7{,}40$, wird. Bei I ist hierfür eine alveolare CO_2-Spannung von 33,5 mm, bei II eine von 40 mm, bei III eine von 48,5 mm CO_2 erforderlich (siehe Fig. 1). Die „regu-

[1]) Die Wasserstoffionenkonzentration, S. 4.

lierte Wasserstoffzahl" der drei Blutproben ist dann in allen Fällen die gleiche.

Die „regulierte Wasserstoffzahl" des Blutes sei dann die bei alveolarer CO_2-Spannung zu konstatierende Wasserstoffzahl des Blutes. Ihre Größe ist von der Erregbarkeit des Zentrums abhängig. Ist die Erregbarkeit des Atemzentrums so weit erhöht, daß die Regulation bei $p_{H'} = 7{,}45$ statt bei $p_{H'}$ 7,40 vor sich geht, so muß die Person mit dem Blute II ihre alveolare CO_2-Spannung auf 33,5 mm CO_2 herabsetzen, usw.

Es will mir scheinen, als ob man mit einer solchen Ausdrucksweise betreffs der Entstehung der geänderten Wasserstoffzahl nichts präjudiziert, jedenfalls nicht zu vieles. Die „reduzierte Wasserstoffzahl" des Blutes ist eine objektiv meßbare Größe, und daß die alveolare CO_2-Spannung und somit auch die „regulierte Wasserstoffzahl" des Blutes aus einer wirklichen Regulation als Produkt hervorgeht, wird doch wohl von keinem bestritten werden können.

Wie oben gezeigt wurde, liegen von Barcroft und von mir Beobachtungen einer Naunynschen Acidose mit Erniedrigung jedenfalls der regulierten Wasserstoffzahl des Blutes vor. Man denke sich die nicht zu leugnende Möglichkeit, daß bei einer solchen Acidose die Ammoniakbildung spezifisch so stark angeregt würde, daß als Endresultat eine Erniedrigung auch der reduzierten Wasserstoffzahl des Blutes hervorginge. In diesem Fall würde — der älteren Ausdrucksweise gemäß — die „Acidose" keine „Acidose" erzeugt haben, sondern das Gegenteil!

Zusammenfassung.

Es wird vorgeschlagen, die ursprüngliche Definition des Ausdrucks „Acidosis" aufrecht zu erhalten. „Acidosis" ist dann ein Zustand, wo Salze unverbrennender organischer Säuren in ungewöhnlicher Menge im Blute kreisen.

Zur Bezeichnung des Gleichgewichts zwischen Säuren und Basen im Blute ist nur die Angabe der H-Ionenkonzentration = der Wasserstoffzahl (Michaelis) verwendbar.

Die Wasserstoffzahl des Blutes bei 40 mm CO_2-Spannung wird die „reduzierte Wasserstoffzahl“ genannt und erlaubt uns, die aktuelle Reaktion verschiedener Blutsorten unter sich zu vergleichen.

Die „regulierte Wasserstoffzahl“ des Blutes geht als Endresultat aus den regulierenden Kräften des Organismus: der Nierentätigkeit, der Ammoniakbildung, der Atmungsregulation, hervor und wird als die Wasserstoffzahl des Blutes bei alveolarer CO_2-Spannung definiert. Die regulierte Wasserstoffzahl des Blutes steigt und fällt mit fallender und steigender Erregbarkeit des Atemzentrums.

Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Problemen der Biologie und Kolloidchemie.

(Mit besonderer Berücksichtigung der Blutgerinnungsfrage.)

Von

E. Hekma.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 19. Januar 1916.)

VIII.

Zur Kenntnis der Quellung und Entquellung des Fibrins.

In der vorhergehenden Abhandlung[1]) gelangte ich zu dem vorläufigen Schluß, daß das Fibrin in natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosolen, bzw. Gerinnungsflüssigkeiten, in einem unter dem Einfluß von Alkali wassergequollenen Zustande vorhanden sein müsse und daß der Fibrinausscheidung dementsprechend im Prinzip ein Entquellungsvorgang zugrunde liegen dürfte. Der Wunsch, diese Hypothese durch weitere experimentelle Beweise stützen und womöglich zur Tatsache erheben zu können, veranlaßte mich zu dem Studium einiger Quellungs- und Entquellungserscheinungen des Gels Fibrin. Allerdings kam die Erwägung hinzu, daß unsere Einsicht in die Verhältnisse bei der Quellung und Entquellung von Gelen überhaupt dabei zu gleicher Zeit gefördert werden könnte. Denn wenn ich nicht irre, wurde das Studium dieser Vorgänge vor allem dadurch erschwert, daß bezüglich der meisten in Betracht kommenden Gele die Kenntnis ihrer Entwickelungsgeschichte (bzw. „Vorgeschichte“) und diejenige ihrer Struktur noch große Lücken aufweist. Diese Verhältnisse sind ja nun-

[1]) Diese Zeitschr. 73, 428, 1916.

mehr bei dem Fibrin in mancher Hinsicht geklärt worden, so daß das Gel dieses Eiweißkörpers, bzw. die Fibrinfasermasse, ein sehr geeignetes Versuchsmaterial für Untersuchungen über die Quellung und Entquellung im allgemeinen darstellen dürfte.

Das. Fibrin bietet in dieser Beziehung außerdem noch gewisse andere Vorteile. Die Fibrinfasermasse kann im wasserfeuchten, sowie im getrockneten Zustande, und zwar als solche oder fein zerteilt bzw. pulverisiert, verwendet werden, z. B. für Versuche über die Zu- und Abnahme des Volumens und des Gewichts, über den Quellungsdruck, den Einfluß von Elektrolyten usw. Aber außerdem läßt sich, meiner Erfahrung nach, bei diesem Gel der Verlauf der Quellung und Entquellung unter verschiedenen Einflüssen in den meisten Fällen recht gut registrieren bzw. in Kurven festlegen, so daß man die Erscheinungen vergleichenderweise und gewissermaßen quantitativ studieren kann. Zu diesem Zwecke kann die wasserfeuchte oder die lufttrockene Fibrinmasse, nach Art eines Froschmuskelpräparates, zwischen zwei Klemmen aufgehängt werden, von denen die obere mit einem Schreibhebel verbunden ist. Für genauere Untersuchungen empfiehlt es sich allerdings, feinere Registriervorrichtungen zu verwenden.

Die Quellungs- und Entquellungserscheinungen von Gelen sind seit den grundlegenden Untersuchungen J. M. van Bemmelens und seiner Mitarbeiter bekanntlich sehr eifrig erforscht worden, u. a. auch in der Absicht, die Frage nach der Natur der „kolloiden Lösungen" bzw. den Solen und nach dem Wesen der Gelbildung zu klären. Von Pauli[1]) ist ja schon vor geraumer Zeit ganz im allgemeinen der Satz aufgestellt worden, daß der Übergang des Gels in das Sol einem Quellungsvorgang, und der Übergang des Sols in das Gel einem Entquellungsprozeß entspreche. Es wiesen nun, wie schon erwähnt worden ist, gewisse bei dem Fibrin vorliegende Verhältnisse darauf hin, daß jener Satz in bezug auf diesen Eiweißkörper zutreffen dürfte. Es kam nur darauf an, den sicheren Beweis dafür zu erbringen. Falls sich nachweisen ließe, daß das unter dem Einfluß von Alkali in Quellung versetzte Fibrin zur Entquellung gebracht werden könnte von denjenigen Fak-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. **67**, 219, 1897; **71**, 333, 1898.

toren, die Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung in natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosolen zu erzeugen vermögen, so würde dies meines Erachtens für die Richtigkeit meiner vorläufigen Schlußfolgerung, daß der Fibringerinnung ein Entquellungsvorgang zugrunde liegen muß, sprechen.

Das Fibrin ist bis jetzt noch kaum als Versuchsmaterial für Untersuchungen über die Quellung und Entquellung benutzt worden. Soweit mir bekannt, liegen in dieser Hinsicht nur Untersuchungen von M. H. Fischer[1]) vor, die gewiß an sich recht interessant sind, sich aber auf das rohe Fibrin beziehen. Es dürfte die Frage berechtigt sein, ob die in dem rohen Fibrin immer in bedeutender Menge vorhandenen Blutformelemente bzw. deren Reste, die ja an sich zweifellos auch quellungsfähig sind, bei den Versuchen, namentlich auch bei solchen, wo von dem Elektrolyteneinfluß die Rede ist, sich nicht in störender Weise geltend machen könnten. Um dieser Möglichkeit vorzubeugen, dürfte es sich empfehlen, für Versuche betreffs Quellung und Entquellung nur „reineres", aus möglichst blutformelementenfreien Gerinnungsflüssigkeiten gewonnenes Fibrin zu benutzen. Demgemäß habe ich meine Untersuchungen mit solchem Fibrin angestellt, das entweder auf „spontanem" Wege oder unter Serumeinfluß aus Blutformelementen freiem Fluoridplasma erhalten wurde[2]). Ich möchte mich an dieser Stelle nur hauptsächlich auf solche Versuche beschränken, die für die augenblicklich von mir verfolgte Aufgabe: die Natur der Fibrinalkalihydrosole und somit das Wesen der Fibrinausscheidung näher zu erforschen, von wesentlichem Belang erscheinen. Dementsprechend werden wir an erster Stelle die Entwässerung des wasserfeuchten Fibrins durch Eintrocknung und die Wiederwässerung des starren Gels und an zweiter Stelle die Quellung des Gels Fibrin unter Alkalieinfluß und die nachherige Entquellung unter verschiedenen Einflüssen behandeln.

---

[1]) Das Ödem. Aus dem Englischen übersetzt von K. Schorl und W. Ostwald, 1910. Dresden, Th. Steinkopf.

[2]) Übrigens läßt sich für die betreffenden Versuche ebenfalls das auf noch andere Weise gewonnene „reinere" Fibrin verwenden.

1. Über die Entwässerung des wasserfeuchten Fibrins durch Eintrocknung und die Wiederwässerung des starren Gels, an der Hand seines strukturellen Baues.

Bekanntlich trocknet die gewöhnliche wasserfeuchte Fibrinfasermasse zu einer harten, starren Masse beim Liegenlassen oder Aufhängen an der Luft ein. Dasselbe ist meiner Erfahrung nach mit dem reineren an Formelementen freien Fibrin der Fall[1]). Es soll fernerhin ausschließlich von dem „reineren" Fibrin die Rede sein.

Hängt man eine in Wasser tüchtig gewaschene reinere Fibrinfasermasse in einer Klemme bei Zimmertemperatur frei an der Luft auf, so tropft anfangs Wasser ab. In den nächsten Viertelstunden fällt noch dann und wann ein Tropfen herunter, und schließlich hört das Abtropfen ganz auf, obwohl die Masse noch feucht ist. Allmählich schrumpft die Masse ein, indem sie dabei sehr zäh wird, und nach 24 bis 48 Stunden ist ein hartes, starres, brüchiges Stäbchen übrig geblieben, das etwa wie eine getrocknete dünne Sehne aussieht. Der Rest des Wassers muß naturgemäß durch Verdunstung verloren gegangen sein.

Wird das Stäbchen bzw. das starre Gel nunmehr in destilliertes Wasser zurückgelegt, so treten bald einzelne Luftbläschen an ihre äußere Oberfläche, wie sich durch mikroskopische Beobachtung feststellen läßt[2]). Nach der vollendeten Wässerung, die erst im Verlauf von Stunden zustande kommt, ist das Stäbchen wieder dehnbar und elastisch geworden; das Volum hat sich bedeutend vergrößert, bleibt jedoch gegen das Volum, das die Fibrinmasse ursprünglich im wasserfeuchten Zustande besaß, zurück.

Es werden bei der Wässerung bzw. der Wasserquellung des starren Gels mehrere Stadien durchlaufen; das Fibrinstäbchen wird nämlich anfänglich durchsichtiger, dann wird es weiß und undurchsichtig wie Milchglas, während es schließlich nahezu so aussieht wie das urspüngliche wasserfeuchte Fibrin; nur erscheint es bedeutend kompakter. Dabei vermehren sich

[1]) Diese Zeitschr. 63, 184, 1914.

[2]) Unter Umständen sind die Luftbläschen bedeutend größer und makroskopisch sofort wahrnehmbar.

die an die Oberfläche tretenden Luftbläschen zusehends im Laufe der Quellung; bisweilen bekommt man den Eindruck, als ob das Stäbchen mit mikroskopisch feinen Glasperlen besetzt wäre. Aus dem Luftaustritt muß geschlossen werden, daß es sich bei dem getrockneten Gel um eine poröse Masse handelt, deren mit der Außenluft kommunizierende Mikrocapillaren ganz oder teilweise mit Luft ausgefüllt sind. Das dürfte ja auch verständlich sein, wenn man sich die Vorgeschichte des starren Gels im Zusammenhang mit der Struktur des wasserfeuchten Fibrins vor Augen hält. Die Fibrinfasermasse ist ja zusammengestellt aus den bekannten typischen mikroskopisch feinen Fibrinfädchen, deren Dicke und Länge etwas variiert. Die Fibrinfädchen sind zwar in der wasserfeuchten Fibrinfasermasse zu Bündeln vereinigt, bzw. zu Fasern verflochten, aber die einzelnen Fädchen lassen sich mittels Nadelpräparation, wenn auch oft mit einiger Mühe, doch wieder isolieren. Dementsprechend dürfen wir annehmen, daß sämtliche Fibrinfädchen in ihrem ursprünglichen wasserfeuchten Zustand von einer dünnen Wasserschicht umgeben sind, daß sie sich sozusagen in Wasser eingebettet vorfinden.

Beim Trocknen werden dementsprechend zwischen den Fädchen, bzw. um sie herum, feine und äußerst feine Hohlräume, interfibrilläre Capillarräume, gebildet, indem das Wasser in den Räumen durch Luft ersetzt wird. Möglicherweise haben sich beim Trocknen an einigen Stellen die Fibrinfädchen fest aneinander geschlossen, so daß hier und da auch abgeschlossene Hohlräume entstanden sein mögen. Wie dem auch sei, jedenfalls liegt ein starres Gelgerüst mit einem System, wenigstens zum größten Teil mit der Außenluft kommunizierender Mikrocapillarräume vor. Die Wände dieser Capillarräume werden naturgemäß von Fibrinfädchen bzw. Fibrinfädchenbündeln dargestellt, und zwar von eingetrockneten Fibrinfädchen. Denn bei dem Eintrocknen des wasserfeuchten Fibrins zu einer starren Masse kann es sich doch nicht bloß um ein Verschwinden von Wasser aus dem zwischen den Fädchen vorhandenen Räumen handeln, sondern es müssen sich außerdem auch die Fädchen bzw. die inneren (und äußeren) Gelwände selber an dem Wasserverlust beteiligen. Würden die Gelwände bzw. die Fädchen wasserhaltig bleiben, so dürfte man erwarten, daß das Gel nach

dem Trocknen wenigstens einigermaßen zäh und biegsam geblieben sein würde. Das trifft jedoch, wie schon erwähnt, nicht zu: das Material ist ganz starr und brüchig geworden. Deshalb müssen die inneren Gelwände, d. h. die Fädchen, selber starr und brüchig geworden sein und zwar infolge eines Wasserverlustes durch Verdampfung. Bei dem Eintrocknen des wasserfeuchten Fibrins müssen somit zwei Vorgänge stattfinden: erstens geht ein Teil des zwischen den Fädchenbündeln bzw. den Fädchen vorhandenen Wassers, der Schwerkraft gehorchend, durch Abtropfen verloren, und zweitens verschwindet der Rest des in den interfibrillären Spalten enthaltenen Wassers, sowie das in den Fädchen selber befindliche durch Verdampfung.

Wird nunmehr das starre Gelgerüst in Wasser zurückgebracht, so wird zunächst wieder die Luft in den offenen Capillarräumen von Wasser ersetzt werden, wie aus dem Entweichen von Luftbläschen hervorgeht. Bei der Wässerung kann es sich jedoch wieder nicht bloß um ein Eindringen von Wasser in die Capillarräume handeln, etwa wie wenn Wasser in den Zwischenräumen eines Bündels feinster Glasnadeln eindringt. Wäre das der Fall, so müßten ja die Gelwände bzw. die Fädchen und somit das ganze Gelgerüst mehr oder weniger starr bleiben, was eben nicht zutrifft: das starre Gel wird im Gegenteil allmählich wieder zäh, biegsam und schließlich dehnbar und elastisch. Es muß also von den Gelwänden, d. h. den Fädchen selbst wieder Wasser imbibiert bzw. absorbiert worden sein. Auch bei der Wiederwässerung des starren Gels sind zunächst zwei Vorgänge auseinander zu halten: das Eindringen von Wasser in die lufthaltigen interfibrillären Capillarräume und eine Wasseraufnahme seitens der Fibrinfädchen selber.

Das Studium der Vorgänge bei der Entwässerung und Wiederwässerung des Fibringels ist naturgemäß eine Aufgabe für sich. Es treten dabei eine Anzahl von Fragen an uns heran, die sich auch in Hinsicht auf andere organische (und anorganische) Gele ergeben haben und teilweise noch ergeben. Es wäre gewiß interessant, zu ermitteln, inwieweit für das Fibringel ähnliche Gesetzmäßigkeiten gültig sind, wie sie von J. M. van Bemmelen zuerst und dann auch von manchen anderen Autoren an verschiedenen Gelen eingehend studiert worden sind. Es ist indes keineswegs meine Absicht, mich mit der

Entwässerung und Wiederwässerung des Fibringels nach allen Richtungen hin zu befassen. Ich möchte mich hier vielmehr darauf beschränken, zu ermitteln, welche ursächlichen Vorgänge der Entwässerung und der Wiederwässerung des Fibrins zugrunde liegen und zwar namentlich mit Rücksicht auf die später zu behandelnden Fragen nach den Vorgängen bei der Quellung des Fibrins unter Alkalieinfluß und der entsprechenden Entquellung unter verschiedenen Einflüssen.

Bei den ursächlichen Vorgängen der Entwässerung des Fibrins durch Eintrocknung brauchen wir kaum zu verweilen. Es muß sich ja, wie schon hervorgehoben wurde, bei dem Abtropfen des Wassers um eine Wirkung der Schwerkraft und bei dem weiteren Wasserverlust aus den interfibrillären Räumen, sowie aus den Fädchen selber, um Verdampfung handeln. Nur die Frage, weshalb nicht alles Wasser aus den interfibrillären Räumen durch Abtropfen verloren geht, könnte zu weiteren Betrachtungen Veranlassung geben. Es wäre zu erwägen, ob ein Teil des Wassers in diesen Räumen infolge einer rein physikalischen Capillarwirkung zurückgehalten wird, oder ob dabei noch andere Ursachen im Spiele sein könnten. Ich gehe jedoch an dieser Frage vorüber, einesteils weil sie für die von mir verfolgten, oben kurz skizzierten Zwecke und Ziele ohne wesentlichen Belang ist, andernteils weil ihre Beantwortung sich ohne Mühe aus den bei der Wiederwässerung zu entwickelnden Gesichtspunkten ergibt.

Wir werden uns nämlich mit den ursächlichen Vorgängen bei der Wiederwässerung des starren Gels etwas eingehender zu befassen haben. Es sei noch einmal hervorgehoben, daß die nachstehenden Ausführungen wie die vorstehenden für „reineres" Fibrin gelten, das entweder unter Serumeinfluß oder auf „spontanem" Wege aus möglichst an Blutformelementen (inkl. Plättchen) freiem Fluoridplasma gewonnen worden war[1]).

---

[1]) Es läßt sich, wie schon erwähnt, für Versuche betreffs der Wässerung und Entwässerung, Quellung und Entquellung ebenso gut auf irgendeine andere Weise gewonnenes reineres Fibrin verwenden, auch solches, das aus künstlichen Fibrinalkalihydrosolen erhalten worden ist. Um jedoch den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen habe ich bei den in Rede stehenden Versuchen vorwiegend von dem nach den obengenannten Methoden erhaltenen Fibrin Gebrauch gemacht.

Das wasserfeuchte Fibrin wurde zu den Versuchen, wie gesagt, in einer Klemme an der Luft frei aufgehängt, um ein starres Gel zu gewinnen. Für gewöhnlich wurden für die Versuche in dieser Weise erhaltene starre Fibrinstäbchen verwendet von etwa 2 mm Dickendurchmesser und 2 bis 3 cm Länge. Nachdem ein solches Stäbchen in Wasser gelegt oder in Wasser aufgehängt worden ist, treten bald auch schon einzelne mikroskopisch feine Luftbläschen an die Oberfläche, während das Volumen etwas zunimmt. Der Anfang der Wässerung tritt also ziemlich schnell ein, während die weitere Wässerung erst ganz allmählich, im Laufe einiger Stunden vor sich geht.

Während wir es bei dem getrockneten reineren Fibrin mit einem porösen Gelgerüst, in dem ein außerordentlich stark entwickeltes Mikrocapillarsystem vorhanden ist, zu tun haben, ist in dem Gelgerüst eine besonders große innere Oberfläche vorhanden. Und außerdem steht das Capillarsystem mit einer großen Anzahl von Mündungen mit der Außenluft in Verbindung, was aus der Tatsache hervorgeht, daß an allen Seiten feine Luftbläschen sich bilden. Theoretisch wären also die Bedingungen für ein Eindringen von Wasser in das Gelgerüst sehr günstige — wenn nur die Capillaren nicht so außerordentlich fein wären. Es fragt sich sogar, ob, angesichts der großen Feinheit der Capillaren, ein Eindringen von Wasser nicht noch sehr viel langsamer vor sich gehen würde, gesetzt, daß man es mit reaktionsunfähigen Capillarwänden zu tun hätte.

Übrigens sei bemerkt, daß bei der Fibrinausscheidung im möglichst von Formelementen inkl. Plättchen freien Plasma zu gleicher Zeit kolloide Fremdsubstanzen präcipitieren, namentlich bei der Verwendung von Serum als Reagens. Solche kolloide Fremdsubstanzen von amorpher Körnerform bleiben zum Teil an den Fibrinfädchen haften und werden in den Fädchenbündeln bzw. den Fasern eingeschlossen, indem sie sich auch bei wiederholter tüchtiger Wässerung nicht ganz entfernen lassen. Dergleichen Fremdsubstanzen verunreinigen naturgemäß das „reinere" Fibrin, und ich habe teilweise wegen dieses Umstandes stets die Bezeichnung „reineres Fibrin" anstatt „reines" Fibrin verwendet. Weil solche Fremdsubstanzen sich in den interfibrillären Räumen vorfinden, können sie naturgemäß bei der Wässerung (indem sie bei der Entwässerung eintrocknen) eine gewisse Wirkung ausüben. Ich lasse jedoch diesen Faktor bei meinen Ausführungen der Einfachheit halber außer Betracht.

Es ist offenbar eben der Tatsache, daß reaktionsfähige Capillarwände vorliegen, zu verdanken, daß die Wässerung nicht noch viel mehr Zeit braucht. Die Capillarwände bzw. die äußeren und inneren Gelwände, d. h. die Fibrinfädchen selber, nehmen ja ebenfalls Wasser auf. Und somit ergeben sich zunächst zwei Hauptfragen. Erstens die, welche ursächlichen Vorgänge dem Eindringen von Wasser in das lufthaltige interfibrilläre Capillarsystem zugrunde liegen mögen, und zweitens die, auf welche Ursachen die Wasserimbibition bzw. Absorption seitens der starren Gelwände, d. h. seitens der starren Fibrinfädchen begründet ist.

Kann es sich bei dem Eindringen von Wasser in die lufthaltigen interfibrillären Capillarräume des starren Gels um rein physikalische Capillarwirkungen handeln, also um einen Vorgang, der dem Aufstieg von Wasser in äußerst feinen Glascapillaren ähnlich wäre? Bejahendenfalls würden dann die für die rein physikalische Capillarwirkung im allgemeinen geltenden Gesichtspunkte[1]) auch hier maßgebend sein, und wir könnten somit diesen Punkt unberücksichtigt lassen. Es dürfte jedoch, wie mir scheint, die Tatsache, daß die Capillaren in dem vorliegenden Fall so außerordentlich fein sind, sich von vornherein einer solchen Annahme widersetzen; es mögen bei der Ausfüllung der interfibrillären Mikrocapillaren mit Wasser rein physikalische Capillarkräfte, aber dabei zu gleicher Zeit zweifellos noch andere Kräfte mitwirken. Es muß meines Erachtens in den starren inneren Gelwänden, d. h. in den starren Fibrinfädchen selber, eine wasseranziehende Kraft stecken. Die inneren Gelwände bzw. die starren Fibrinfädchen besitzen eben das Vermögen, Wasser imbibieren bzw. absorbieren zu können[2]). Und dieselben Kräfte, welche die Fädchen absorptionsfähig

---

[1]) Man vgl. hierzu: F. Hofmeister, Arch, f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 27, 395, 1890, und vor allem: H. Freundlich, Capillarchemie. Akad. Verlagsgesellsch. m. b. H., Leipzig 1909.

[2]) Hierzu sei bemerkt, daß, wenn man ein starres Fibrinstäbchen in starken Alkohol oder in Terpentin legt, das Stäbchen nicht weiß, im Gegenteil eher etwas durchsichtiger wird und bleibt. Das Stäbchen bleibt dabei starr und leicht zerbrechlich. In diesen Fällen handelt es sich offenbar vorwiegend um ein Eindringen des Alkohols bzw. des Terpentins in die Mikrocapillaren.

gestalten, dürften sie auch in den Stand setzen, Wasser an ihre Oberfläche anziehen bzw. ansaugen zu können: es muß der Wasserabsorption in die Fädchen ein Wasseradsorption an die Fädchen infolge einer und derselben ursächlichen Kraft vorangehen. Wenn wir also ermitteln können, auf welchen kausalen Vorgängen die Wasserabsorption seitens der starren Fibrinfädchen beruht, so wäre damit zugleich die Frage beantwortet, infolge welcher Kraft — außer der rein physikalischen Capillarwirkung — das Wasser in die interfibrillären Capillarräume des Gelgerüstes eindringt.

Bei einem Beantwortungsversuch der Frage, um welche ursächlichen Vorgänge es sich bei der Wasserabsorption seitens der Fibrinfädchen handeln mag, müssen wir uns zunächst die hinsichtlich der Entwicklungsgeschichte und des strukturellen Baues der Fibrinfädchen ermittelten Tatsachen vergegenwärtigen.

Wie in der vorhergehenden Arbeit erörtert worden ist, gelangt das Fibrin bei der „spontanen“ Gerinnung im Fluoridplasma, ebenso wie bei der „natürlichen“, jedoch verzögerten Gerinnung in einem Blut- bzw. Plasmatropfen, in Form von länglichen, ultramikroskopisch noch gerade sichtbaren Elementen, von krystallähnlichen Nädelchen sowie von richtigen Fädchen zur Ausscheidung. Und wir haben erfahren, daß dasselbe bei der in natürlichen und künstlichen Gerinnungsflüssigkeiten unter dem Einfluß von Blutserum und anderen Reagenzien erzeugten Fibrinausscheidung der Fall ist.

Es hat sich weiter ergeben: daß die allerfeinsten suspendierten länglichen Fibrinmolekülkomplexe, oder „Fibrinformelemente“, sich in Längsrichtung zu größeren länglichen Fibrinmolekülkomplexen anordnen, indem sie sich an- und gegeneinander reihen; daß die feinsten und feineren Fibrinmolekülkomplexe bzw. Fibrinformelemente sich auch durch „Wachsen“ vergrößern können; daß schließlich der Aufbauprozeß sich so weit fortsetzt, daß richtige feine Fibrinfädchen gebildet werden. Nach Analogie dieser bei der mikroskopischen Untersuchung zu beobachtenden Vorgänge scheint, wie früher schon ausgeführt, die Annahme gerechtfertigt, daß auch die unmittelbar als solche sichtbar werdenden Fibrinfädchen aus im „isolierten“ Zustande sich als längliche Ultra-

mikronen bzw. Mikronen[1]) ausnehmenden Fibrinmolekülkomplexen aufgebaut sein müssen. Sämtliche Fibrinfädchen können wir uns also als aus länglichen Ultramikronen zusammengestellt vorstellen.

Naturgemäß müssen die letzteren Elemente, die länglichen Ultramikronen, durch ein Zusammentreten noch kleinerer Fibrinmolekülgruppen entstanden sein, denn sonst müßten wir ja schließen, daß sie als solche im „flüssigen" Zustande in den Gerinnungsflüssigkeiten vorhanden sein würden. Das mag gelegentlich zutreffen, aber höchstens nur ausnahmsweise.

Wie sehr auch die fertigen Fibrinfädchen (und dasselbe gilt für die Nädelchen) bei der mikro- bzw. ultramikroskopischen Untersuchung den Eindruck erwecken, homogene Gebilde darzustellen, so muß doch auf Grund ihrer Entwicklungsgeschichte geschlossen werden, daß in ihnen eine gewisse Diskontinuität vorhanden ist; daß also die fädchenbildenden Bausteine zwar unter sich sehr innig zusammenhängen, aber daß sich nichtsdestoweniger zwischen diesen Bausteinen äußerst kleine Flüssigkeitsmengen finden und zwar auf Grund folgender Überlegungen. Die einzelnen länglichen Ultramikronen und Mikronen werden naturgemäß von dem Flüssigkeitsmedium, in dem sie entstehen, benetzt, indem diesen „Fibrinformelementen" bzw. diesen Bausteinen der Fädchen vermöge einer „Adhäsionskraft" oder „Adsorptionskraft" (die in diesem Falle wenigstens teilweise auf die Klebrigkeit der Ultramikronen und Mikronen zurückgeführt werden müssen), Flüssigkeitsspuren anhaften. Falls die länglichen Ultramikronen sich aus noch kleineren, im amikroskopischen Zustande zur Ausscheidung gelangten Fibrinmolekülkomplexen aufbauen würden, so müßte man logischerweise annehmen, daß auch letztere von einer außerordentlich dünnen Flüssigkeitsschicht umgeben sind, und daß somit schon innerhalb der länglichen Ultramikronen selber geringe Flüssigkeitsspuren enthalten sein müßten, bzw. daß in diesen Bausteinen an sich schon eine gewisse Diskontinuität vorhanden sei. Die an der Oberfläche der Mikronen, Ultramikronen und eventuell Amikronen haftenden Flüssigkeitsspuren werden bei dem Auf-

[1]) Die allgemeinen Bezeichnungen: Mikronen, Ultramikronen (Submikronen) sowie Amikronen stammen bekanntlich von H. Siedentopf und R. Zsigmondy.

bau dieser Bausteine zu Fädchen in den letzteren mit eingeschlossen werden.

Dementsprechend müssen die größeren, kleineren und allerkleinsten Bausteine bzw. „Fibrinformelemente“ in den Fädchen von einer äußerst dünnen Flüssigkeitsschicht getrennt sein; es muß mithin in den Fädchen eine amikroskopische Diskontinuität bestehen: jedes Fibrinfädchen dürfte ein „heterogenes System“ darstellen[1]).

Beiläufig sei bemerkt, daß infolge dieser Verhältnisse kein grundsätzlicher Unterschied zwischen dem frisch „präcipitierten“ bzw. „suspendierten“ Fibrin und dem ausgebildeten Gelzustand des Fibrins existieren kann. Der Unterschied besteht ja tatsächlich nur darin, daß die Fibrinteilchen im „Suspensionszustand“ bzw. im anfänglichen Entwicklungsstadium der Gelbildung stärker räumlich getrennt sind als im ausgebildeten Gelzustande. Die Ultramikronen und Ultramikronenverbände bzw. Nädelchen finden sich unmittelbar nach beginnender Fibrinausscheidung nur bedeutend stärker in dem Gerinnungsmedium verteilt, während die Ultramikronen und Mikronen in dem ausgebildeten Gel sämtlich zu größeren Verbänden (Fädchen) unter Einschluß von Spuren des Gerinnungsmediums

---

[1]) Hierin liegt ein weiterer Grund, weshalb ich von „reinerem“ statt „reinem“ Fibrin spreche. Der Umstand, daß Spuren des Gerinnungsmediums mit in die Fädchen aufgenommen werden, bringt es mit sich, daß das auf verschiedene Weisen erhaltene „reinere“ Fibrin im streng chemischen Sinne nicht einheitlich ist und daß gewisse Unterschiede in den Eigenschaften des „reineren“ Fibrins bestehen können. Aller Wahrscheinlichkeit nach liegt z. B. hierin teilweise die Erklärung für die Tatsache, daß das unter dem Einfluß oder unter Mitwirkung von Calciumsalzen erhaltene Fibringel sich in gewisser Hinsicht abweichend verhält. Übrigens möchte ich noch hinzufügen, daß zweifellos auch ultramikroskopisch wahrnehmbare „feste“ Fremdsubstanzen in die Fibrinfädchen mit aufgenommen werden können. Es läßt sich nämlich unschwer feststellen, daß z. B. bei der „spontanen“ Gerinnung und bei der unter Serumeinfluß Ultramikronen („Hämokonien“ und andere punktförmige Körper, wahrscheinlich verschiedener Art und Ursprungs) an den Nädelchen haften und haften bleiben. Wo solche „Nädelchen“ zu größeren „Verbänden“ (größeren Nadeln, Fäserchen, Fädchen) zusammentreten, da werden dergleichen Ultramikronen naturgemäß in das Erzeugnis mit eingeschlossen werden und somit ebenfalls die Reinheit des Fibrins beeinträchtigen.

angeordnet sind. Mit anderen Worten: es besitzen die Fibrinteilchen im ausgebildeten Gelzustande nur einen geringeren „Dispersitätsgrad“ als im frisch „präcipitierten“ bzw. als im anfänglichen Stadium der Gelbildung. Es liegt hier gewissermaßen ein Beispiel des Falles vor, der von Wo. Ostwald[1]) wie folgt beschrieben worden ist:

„Diese normale und typische Beschaffenheit (d. h. die Zusammenhanglosigkeit der dispersen Phase im Dispersionsmittel) kann in manchen Fällen einem anderen komplizierten Verhalten, speziell der dispersen Phase Platz machen. Die letztere kann nämlich ebenfalls in sich zusammenhängend sein und in Form eines Fadenwerks, Netzes, Schwammes usw. das Dispersionsmittel durchziehen. Derartige Systeme werden z. B. in den Anfangsstadien mancher Koagulationsvorgänge gebildet. Unter diesen Umständen fällt offenbar die auf die geometrische Verschiedenheit begründete Unterscheidung zwischen disperser Phase und Dispersionsmittel fort; höchstens wird man die im Überschuß vorhandene Phase als Dispersionsmittel bezeichnen.“

Verfolgen wir nun von den vorstehend entwickelten Gesichtspunkten aus die Frage nach den ursächlichen Vorgängen bei der Wiederwässerung des starren Fibringels weiter. Da für die Versuche solches Fibrin verwendet wurde, das nach der Herausnahme aus der Gerinnungsflüssigkeit vor dem Trocknen tüchtig gewässert worden ist, so müssen wir uns noch vergegenwärtigen, welchen Einfluß die Waschung auf die Zusammensetzung der Fädchen haben muß[2]). Dieser kann, wie mir scheint, höchstens nur der sein, daß die intrafibrilläre Flüssigkeit gewissermaßen „ausgelaugt“ wird, so daß ein Teil der gelöst vorhandenen anorganischen Substanzen fortgespült werden mag. Alle in der Flüssigkeitsschicht gelösten anorganischen Stoffe werden dabei wohl nicht ausgezogen, die organischen zweifellos größtenteils zurückbleiben. Bei der nachherigen Trocknung des wasserfeuchten Fibrins verdampft nun das intrafibrilläre Wasser. Es werden dabei vermutlich außerordentlich feine Poren bzw. Spalträume sich bilden, in denen sich anorganische und organische Fremdsubstanzen im „festen“ bzw. eingetrockneten Zustande vorfinden. Die Fibrinformelemente

[1]) Grundriß der Kolloidchemie, S. 83. Dresden, Th. Steinkopff, 1909.

[2]) Es sei daran erinnert, daß hier von solchem „reineren“ Fibrin die Rede ist, das auf „spontanem“ Wege aus NaF-Plasma oder unter Serumeinfluß gewonnen wird, so daß die intrafibrilläre Flüssigkeit in diesem Falle Plasma bzw. Serumbestandteile enthält.

(Mikronen, Ultramikronen und eventuell Amikronen) bleiben dabei in gegenseitigem Zusammenhang, denn sonst müßte das starre Gel auseinanderfallen. Dies ist nicht der Fall: es wird nur spröde und brüchig.

Beim Einbringen des starren Gels in reines Wasser werden die beim vorherigen Trocknen intrafibrillär zurückgebliebenen Bestandteile unter Lösung bzw. Quellung das Bestreben haben, Wasser anzuziehen. Es wird somit infolge dieser osmotischen Kraft Wasser in die Poren bzw. Räume eingesaugt werden können [1]), welcher Vorgang naturgemäß anfangs nur in den an der äußeren Oberfläche des Gels liegenden Fädchen stattfindet. Nun ist jedoch selbstverständlich die Menge dieser fremden Bestandteile eine sehr geringe im Vergleich zu der Menge der Fibrinsubstanz selber. Die von den ersteren Substanzen ausgeübte wasseranziehende Kraft kann dementsprechend nur eine minimale sein. Nichtsdestoweniger nimmt das starre Gel bei der Wässerung bedeutend an Volum zu, indem es (und somit die Fädchen) wieder biegsam und schließlich dehnbar und elastisch wird. Aus diesen Umständen muß geschlossen werden, daß auch die Fibrinsubstanz selber, d. h. die Fibrinmoleküle oder kleinste Molekülkomplexe, von Wasser durchtränkt werden. Es muß folglich der Fibrinsubstanz selber eine Kraft innewohnen, die hauptsächlich die Wasserabsorption in den Fädchen bewirkt. Man könnte diese Kraft als „Quellungskraft“ bezeichnen, aber es fragt sich dann nach wie vor, welcher Natur diese Quellungskraft sein mag.

Da hier sonst, soweit ich sehe, keine andere ursächliche Kraft in Betracht kommt, drängt sich die Frage auf, ob die „Quellungskraft“ der trocknen Fibrinsubstanz nicht darauf zurückgeführt werden müsse, daß in jener Substanz Alkalispuren vorhanden seien. Es deucht mir, daß die Verhältnisse wirklich darauf hinweisen. Hierzu müssen wir uns zunächst vergegenwärtigen, daß das Fibrin, wie früher dargetan worden ist, in den natürlichen Gerinnungsflüssigkeiten im Alkalihydrosolzustande, bzw. in der Form einer Alkaliadsorptionsverbindung („Fibrinogen“)

---

[1]) Die Möglichkeit, daß außerdem noch rein physikalische Capillarwirkungen in Betracht kommen könnten, wäre zwar nicht ganz auszuschließen, scheint mir jedoch praktisch kaum in Betracht zu kommen.

enthalten ist. Dementsprechend liegt die Annahme nahe, daß bei der Ausscheidung des Fibrins Alkalispuren von der Fibrinsubstanz zurückgehalten werden, und daß es eben diese Alkalireste sind, die der Fibrinsubstanz das Vermögen verleihen, im ausgeschiedenen Zustande eine geringe Menge Wasser absorbiert halten zu können. Und zwar mit dem Erfolg, daß die ausgeschiedenen Fibrinteilchen nicht in einem „festen", sondern in einem „halbfesten", in einem gewissen Quellungszustand also, sich befinden.

Außerdem sei hier daran erinnert, daß nach den Arbeiten Hammarstens[1]) das unter Salzeinfluß ausgeschiedene Fibrin eine neutral reagierende Alkaliverbindung darstellt. In diesem Befund könnte ein weiteres Argument für die Annahme erblickt werden, daß auch in dem auf andere Arten zur Ausscheidung gelangten Fibrin noch Spuren Alkali „gebunden" seien. Übrigens ist die Richtigkeit dieser Voraussetzung der experimentellen Prüfung zugänglich[2]).

Bei der Trocknung des wasserfeuchten Fibrins werden die Alkalireste naturgemäß, weil ja das Wasser verdampft, in der

---

[1]) Nova Acta Reg. Soc. Scient. Upsaliensis, Serie III, **10**, 48, 1875.

[2]) Ich habe betreffs dieses Gegenstandes keine Versuche angestellt. Bei eventuell auf diesen Punkt zu richtenden Untersuchungen müßte dem Umstand Rechnung getragen werden, daß bei der „spontanen" und vor allem bei der unter Serumeinfluß stattfindenden Fibrinausscheidung zu gleicher Zeit organische Substanzen verschiedener Art „präcipitiert" bzw. „koaguliert" werden und zwar um so ausgiebiger, je länger man den Fibrinausscheidungsvorgang währen läßt. Diese Fremdsubstanzen werden zwischen und gelegentlich auch in den Fädchen, wie vorher schon erwähnt, eingeschlossen und lassen sich auch durch wiederholte Waschung sogar aus den interfibrillären Räumen nicht ganz entfernen. Unter diesen Fremdsubstanzen könnten sich möglicherweise Stoffe mit Säureeigenschaften (Nucleoproteide) finden, wodurch das Resultat der Prüfung des Fibrins auf seinen Alkaligehalt getrübt werden könnte. Im Zusammenhang hiermit sei es gestattet, eine früher erwähnte Beobachtung richtigzustellen. Ich habe seinerzeit (diese Zeitschr. **65**, 314, 1914) mitgeteilt, daß in gewissen Gerinnungsflüssigkeiten bei langdauernder Serumeinwirkung ein Fibrin erhalten werden konnte, von dem blaues Lackmuspapier schwach rot gefärbt wurde. Ich habe später die betreffenden Versuche wiederholt, aber stets mit negativem Erfolg. Ich bin daher jetzt zu der Annahme geneigt, daß bei den früheren Proben irgendein irreführender Umstand im Spiele gewesen sein muß und möchte nachträglich die betreffende Behauptung zurücknehmen.

Fibrinsubstanz zurückbleiben. Dieses Alkali wird sich bei der nachherigen Wiederwässerung in der Weise geltend machen können, daß es das Fibrin in den Stand setzt, Wasser anzuziehen und aufzunehmen bzw. zu adsorbieren und nachher zu absorbieren, mit der Folge, daß die Fibrinsubstanz nahezu in denjenigen Wässerungs- bzw. Quellungszustand zurückversetzt wird, den sie ursprünglich im wasserfeuchten Zustande besaß.

Daß das Alkali tatsächlich der trocknen Fibrinsubstanz das Quellungsvermögen verleihen kann, läßt sich (wie hier schon vorweg bemerkt sein mag) leicht auf experimentellem Wege und zwar folgendermaßen nachweisen. Wenn auf irgendeine Weise gewonnenes, wasserfeuchtes reineres Fibrin in eine geringe Menge einer äußerst schwachen Alkalilösung (z. B. $^n/_{500}$-NaOH) gebracht wird[1]), so nimmt es bald an Volum zu. Wenn man nun das gequollene Fibrin aus der Flüssigkeit mit einer Pinzette herausnimmt und in einer Klemme an der Luft aufhängt, so trocknet es ein; es wird schließlich starr und brüchig in ganz derselben Weise, wie dies nach dem Trocknen des einfach wasserfeuchten Fibrins geschieht. Der weitaus größte Teil des Quellungswassers ist in diesem Fall durch Verdampfung verloren gegangen (es tropft nur wenig Wasser herab); in der starren Masse muß also eine verhältnismäßig beträchtliche Menge Alkali zurückgeblieben sein. Wenn man das starre Stäbchen in wenig Wasser überträgt[2]), so wird ein weit größerer Quellungsgrad erreicht als der, den das Fibrin im ursprünglichen wasserfeuchten Zustande besaß. Es geht aus diesem Versuch meiner Meinung nach in unzweideutiger Weise hervor, daß das Alkali die Fibrinsubstanz befähigen kann, unter Quellung Wasser zu absorbieren. Weil übrigens mit an Sicherheit grenzender Wahrscheinlichkeit angenommen werden

---

[1]) Die Alkalilösung muß äußerst schwach und die Menge der verwendeten Flüssigkeit nicht zu groß sein, denn sonst kann es sich ereignen, daß das Fibrin schon während der Quellung an seinen Rändern sich zu „lösen“ anfängt. Auch muß man das schwache Alkali nicht zu lange einwirken lassen, weil sonst das Fibrin seinen Zusammenhang verliert bzw. „verquillt“.

[2]) Es muß eben nur wenig Wasser verwendet werden, denn von großen Mengen Wasser wird dem Fibrin Alkali entzogen, so daß unter solchen Umständen nur ein verhältnismäßig niedriger, vorübergehender Quellungsgrad erreicht wird.

darf, daß in dem ursprünglichen wasserfeuchten Fibrin Spuren Alkali enthalten sind, so liegt die Annahme nahe, daß die „Quellungskraft" bzw. die ad- und absorbierende Kraft der getrockneten wasserfeuchten Fibrinsubstanz dem in ihr vorhandenen bzw. dem an der Fibrinsubstanz „gebundenen" Alkali bzw. der Fibrinalkali-Adsorptionsverbindung zugeschrieben werden muß.

Die Wiederwässerung bzw. Quellung des durch Trocknen des wasserfeuchten Fibrins erhaltenen starren Gels würde also nach diesen Gesichtspunkten hauptsächlich auf einer „Quellungskraft" der Fibrinfädchen beruhen. Die Quellungskraft könnte ihrerseits wieder darauf zurückgeführt werden, daß die getrocknete Fibrinsubstanz noch Spuren Alkali gebunden enthält, das der Fibrinsubstanz das Vermögen verleiht, auf Wasser eine ad- und absorbierende (d. h. also wohl eine osmotische) Wirkung auszuüben.

Es wäre auch vorwiegend dieser wasseranziehenden Wirkung der alkalihaltigen Fibrinsubstanz zu verdanken, daß das Wasser in den inter- und intrafibrillären Räumen eingesaugt wird. Als Nebenursachen kämen in bezug auf die Ausfüllung der lufthaltigen interfibrillären Hohlräume eine rein physikalische Capillarwirkung, und was das Eindringen von Wasser in die intrafibrillären Räume anbelangt, eine von festen bzw. eingetrockneten Fremdsubstanzen ausgeübte wasseranziehende Wirkung in Betracht.

---

2. Über die Quellung des Fibrins unter Alkalieinfluß und die nachherige Entquellung unter verschiedenen Einflüssen.

Wird eine reinere wasserfeuchte Fibrinfasermasse als solche oder im fein zerschnittenen Zustande in schwaches überschüssiges Alkali (z. B. $^{n}/_{100}$-NaOH) übertragen, so verflüssigt es sich gewöhnlich, bzw. geht in Alkalihydrosolzustand über, ohne daß ein eigentliches Quellungsstadium, es sei denn ein Durchsichtigwerden des Materials, bemerkbar wird. Die Quellung und Solbildung greifen in solchen Fällen offenbar ineinander.

Will man bei dem wasserfeuchten Fibrin die Quellung unter Alkalieinfluß wahrnehmen, so ist es notwendig, auf das Fibrin eine nur kleine Menge einer äußerst schwachen Alkali-

lösung (z. B. $^{n}/_{500}$-NaOH) einwirken zu lassen. Bei diesen Vorkehrungen wird die Quellungsflüssigkeit, in casu die schwache Alkalilösung, von dem Fibrin fast ganz „aufgesaugt“, indem das Fibrin dabei bedeutend an Volum zunimmt. Überläßt man eine in dieser Weise in Quellung versetzte Fibrinfasermasse sich selbst, so geht sie auch in diesem Fall schließlich in Verquellung bzw. Verflüssigung über. Im Stadium, wo die gequollene Fibrinmasse noch so zusammenhängend ist, daß sie sich mit einer Pinzette aufheben läßt, kann sie zu Entquellungsversuchen benutzt werden.

Besser eignet sich jedoch für Entquellungsversuche das unter Alkalieinfluß in Quellung versetzte getrocknete Fibrin, es sei in Form eines starren Stäbchens oder in pulverisiertem Zustande. Bei der Verwendung des lufttrockenen Fibrins in Stäbchenform tritt die Quellung unter Alkalieinfluß bedeutend langsamer ein als bei dem wasserfeuchten Fibrin, und außerdem bleibt die gequollene Fibrinmasse in dem ersten Fall zunächst mehr zusammenhängend, so daß das Material sich besser hantieren läßt.

Wird ein lufttrockenes starres Fibrinstäbchen in eine verhältnismäßig geringe Menge einer sehr schwachen Alkalilösung (z. B. $^{n}/_{500}$-NaOH) übertragen, so geht zwar die Volumzunahme langsamer vor sich als bei einer entsprechenden wasserfeuchten Fibrinfasermasse, aber doch bedeutend rascher, als wenn ein solches trockenes Stäbchen einfach in reines Wasser gelegt wird. Es wird bald ein Quellungsstadium erreicht, welches das des einfach gewässerten Fibrins um das Mehrfache übersteigt. Die Fibrinmasse wird dabei klebrig (was bei dem einfach gewässerten Fibrin nicht der Fall ist). Es behält während geraumer Zeit seinen Zusammenhang bei, wenn auch das Material stärker dehnbar geworden ist. Wenn man nämlich die gequollene Masse zwischen zwei Pinzetten faßt, so läßt sie sich mit Vorsicht ziemlich stark ausdehnen, bedeutend stärker als das einfach gewässerte Fibrin. Während jedoch letzteres sich sofort wieder zusammenzieht, wenn der Zug nachläßt, zieht das unter Alkalieinfluß gequollene Fibrin sich nach der Dehnung nicht nur bedeutend langsamer zusammen, sondern es erreicht auch nicht wieder ganz den vorherigen Zustand: es verharrt in einem gewissen Ausdehnungszustande.

In diesem Quellungsstadium, wo das Fibrin sich also noch dehnen läßt, ohne zu zerreißen, ist es am besten zu Entquellungsversuchen verwendbar.

Entquellung durch Eintrocknung. Wird die gequollene Fibrinmasse in einer Klemme frei an der Luft aufgehängt, so tropft kaum ein Tropfen Flüssigkeit ab. Das Fibrin wird also von dem Alkali nicht nur in den Stand gesetzt, eine größere Menge Wasser aufzusaugen, sondern das Alkali verleiht dem Fibrin zugleich das Vermögen, das imbibierte Wasser, entgegen der Schwerkraft, festzuhalten.

Die gequollene Masse schrumpft bzw. trocknet nun ganz allmählich ein, und etwa nach 2 bis 3 Tagen (je nach Größe der Fibrinmasse, Temperatur und Feuchtigkeitsgrad des Zimmers) ist das vorher stark gequollene, klebrige und sehr dehnbare Gel zu einem winzigen, ganz starren und spröden Stäbchen eingetrocknet, das sich von einem durch Eintrocknung des einfach wasserfeuchten Fibrins erhaltenen Stäbchen dem Aussehen nach nicht unterscheiden läßt. Doch liegt ein Unterschied vor und zwar in dem Sinne, daß wenn man die trockenen Stäbchen in Wasser bringt, das erstere einen weit höheren Quellungsgrad erreicht als das letztere. Das erscheint übrigens ja auch verständlich. Denn das Quellungswasser ist, weil kaum ein Tropfen Flüssigkeit abtropft, fast ganz durch Verdunstung verloren gegangen. Demzufolge muß Alkali in dem Fibrin zurückgeblieben sein, und diesem Alkaligehalt ist naturgemäß die stärkere Quellung im Wasser zu verdanken. Bei dem letzteren Versuch empfiehlt es sich, das trockene alkalihaltige Stäbchen in nur wenig Wasser zu übertragen. Denn bei der Verwendung von viel Wasser wird ein bedeutend niedrigerer Quellungsgrad erreicht, weil dem Fibrin von dem überschüssigen Wasser zuviel Alkali entzogen wird. Daß aus dem alkalihaltigen Stäbchen tatsächlich Alkali in das Wasser übertritt, läßt sich leicht nachweisen. Bringt man das Stäbchen nämlich in nur wenig Wasser, so reagiert dieses bald alkalisch.

Die Tatsache, daß das gequollene Fibrin das alkalische Quellungswasser, der Schwerkraft entgegen, festzuhalten vermag, weist darauf hin, daß das Alkali zu dem Fibrin in eine innigere Beziehung getreten ist, daß eine Art Verbindung zwischen der Fibrinsubstanz und dem Alkali sich gebildet haben muß, die

imstande ist, eine größere Menge Wasser imbibiert, bzw. (physikalisch) gebunden zu halten. Daß es sich aber bei der Fibrinalkaliverbindung nicht um eine festere bzw. chemische Verbindung im gewöhnliche Sinne des Wortes handeln kann, sondern um eine ganz lockere, leicht reversible Verbindung, das beweist schon der Umstand, daß das getrocknete Fibrin einen Teil seines Alkalis wieder an reines Wasser abgibt und dürfte übrigens aus dem folgenden Versuch in unzweideutiger Weise hervorgehen.

Entquellung unter Wassereinfluß. Wird nämlich das durch sehr schwaches Alkali (z. B. $^{n}/_{500}$-NaOH) in Quellung versetzte Fibrin in überschüssiges destilliertes Wasser übertragen, dann wiederholt geschüttelt und das Wasser mehrmals gewechselt, so stellt sich Entquellung, allerdings verhältnismäßig langsam, des Fibrins ein[1]).

Es geht dabei jedoch der Quellungszustand nicht ganz bis auf den einfach gewässerten Zustand des Fibrins zurück, es wird offenbar ein geringer Teil des Alkalis von dem Fibrin zurückgehalten. Daß dem so ist, läßt sich ohne weiteres mit Hilfe des Registrierverfahrens zeigen. Eine Kontrollprobe wird in der Weise angestellt, daß man ein zweites Fibrinstäbchen von derselben Länge und Dicke der einfachen Wässerung unterwirft.

Die Entquellung unter Wassereinfluß des durch Alkali in Quellung versetzten Fibrins kann naturgemäß nur einzig und allein auf den Umstand zurückgeführt werden, daß Alkali aus dem gequollenen Fibrin in das Wasser übergetreten ist, daß eine gewisse Verteilung von dem Alkali auf das Wasser und das Fibrin stattgefunden hat. Demzufolge ist das Fibrin nicht mehr imstande, eine größere Menge Wasser absorbiert zu halten, weil ja eben das Mehralkali dem Fibrin dieses Vermögen verleiht.

Wie schon hervorgehoben wurde, wird meines Erachtens durch dieses Experiment in unzweideutiger Weise dargetan, daß

---

[1]) Das mehrmalige Wechseln des Wassers sowie das Schütteln sind für das Gelingen dieses Versuchs Vorbedingung. Denn wenn das gequollene Fibrin in nur verhältnismäßig wenig Wasser ruhig sich selbst überlassen wird, so ist das Resultat ein entgegengesetztes: das Fibrin geht nämlich dann allmählich in Verquellung bzw. Verflüssigung über. Auch darf die Quellung nicht allzu weit fortgeschritten sein.

es sich bei der Beziehung, in die das Alkali zu dem Fibrin bei der Quellung tritt, nicht um eine chemische Verbindung im gewöhnlichen Sinne des Wortes handeln kann, sondern daß eine Beziehung vorliegt, die in die Kategorie der Adsorptionsverbindungen eingereiht werden muß. Ich werde übrigens später Gelegenheit haben, auf die Natur dieser „Fibrinalkali-Adsorptionsverbindung“ näher einzugehen.

Wir erfahren also, daß das unter dem Einfluß sehr schwachen Alkalis in Quellung versetzte Fibrin auf zwei Wegen zur Entquellung gebracht werden kann. Und zwar erstens dadurch, daß das gequollene Fibrin Wasser auf direktem (primärem) Wege verliert (in casu durch einfache Verdunstung), indem das Alkali in diesem Spezialfall in dem Fibrin ganz oder fast ganz zurückbleibt. Infolgedessen kann das entquollene Fibrin unter dem Einfluß von reinem Wasser wieder in einen erheblichen Quellungszustand zurückversetzt werden. Zweitens dadurch, daß dem gequollenen Fibrin primär Alkali (in casu von Wasser im Übermaß) entzogen wird. Weil das gequollene Fibrin sich in dem letzten Falle eben in einem wäßrigen Medium vorfindet, bzw. weil die Entquellung hier eben von überschüssigem Wasser erzeugt wird, muß man notwendigerweise zu dem Schluß gelangen, daß das Quellungswasser in dem gequollenen Fibrin in einer ganz besonderen Weise enthalten sein muß. Es weist diese Tatsache mit großem Nachdruck darauf hin, daß das Quellungswasser sich nicht nur in den inter- und intrafibrillären Räumen des Gels vorfindet, sondern daß die Fibrinteilchen selber — d. h. die Fibrinmolekülkomplexe oder gar die Fibrinmoleküle — von dem Quellungswasser durchtränkt sein, bzw. sich in einem wassergequollenen Zustand befinden müssen.

Nach Analogie dieser einfachen Versuche liegt es auf der Hand, daß alle diejenigen Faktoren, die das unter Alkalieinfluß in Quellung versetzte Fibrin zu entquellen vermögen, ihren Angriffspunkt entweder in dem Alkali oder in dem Wasser finden müssen. Als weitere Beispiele möchte ich hier vor allem das Verhalten des unter Alkalieinfluß gequollenen Fibrins Säuren und gesättigten Neutralsalzlösungen gegenüber anführen.

Entquellung durch schwache Säuren (Neutralisation des Alkalis) und durch Säure in starken Konzentrationen. Wenn man zu dem gequollenen Fibrin mitsamt

der Quellungsflüssigkeit, in der es sich befindet, eine der Konzentration und der Menge der zu der Quellung benutzten Alkalilösung entsprechende schwache Säurelösung hinzusetzt, so findet Entquellung des Fibrins statt. Wird zuviel der schwachen Säurelösung hinzugefügt, so tritt nur eine kurz vorübergehende Entquellung ein, das Fibrin fängt nämlich recht bald wieder zu quellen an: es tritt eben die quellende Wirkung der schwachen Säure nunmehr in Kraft. Es lassen sich für solche Versuche auch saure Salzlösungen (Na, K, Ca) verwenden und zwar mit Vorteil, weil die Vorgänge sich dabei weit besser verfolgen lassen, indem die nachfolgende Säurequellung bei einem Zuviel an saurer Salzlösung bedeutend langsamer eintritt. Die Entquellung unter dem Einfluß von schwachen Säuren und sauren Salzlösungen geht verhältnismäßig rasch vor sich, wie namentlich auch durch die Registrierung deutlich wird. Die Entquellung kann in diesen Fällen ganz ungezwungen darauf zurückgeführt werden, daß dem gequollenen Fibrin primär Alkali und erst sekundär Wasser entzogen wird. Die Verhältnisse sind hier also ohne weiteres verständlich.

Das trifft jedoch nicht zu in Betreff der entquellenden Wirkung, die gewisse Säuren in starken Konzentrationen auszuüben vermögen. Hierzu sei zunächst bemerkt, daß während alle Säuren in sehr schwachen Konzentrationen das unter Alkalieinfluß gequollene Fibrin zu entquellen vermögen, wenn nur eine Neutralisierung des Alkalis stattfinden kann, das gequollene Fibrin sich starkgrädigen Säuren gegenüber folgendermaßen verhält. Durch gewisse Säuren, nämlich Essigsäure und Orthophosphorsäure, in starken Konzentrationen läßt sich, soweit meine Erfahrung reicht, gar keine Entquellung herbeiführen. Das beruht offenbar auf dem Umstande, daß das Fibrin von diesen Säuren in allen Konzentrationen, sogar von sehr starken, eben in Quellung versetzt wird und zwar besonders rasch. Es scheinen diese Säuren auch in starker Konzentration das Fibrin nicht anzugreifen, denn die unter dem Einfluß dieser Säuren herbeigeführte Quellung ist reversibel. Ganz anders verhalten sich diejenigen Säuren, die Eiweißkörper im allgemeinen aus „Lösungen“ zu fällen imstande sind, z. B. Salzsäure und Salpetersäure in ziemlich starker Konzentration. Wird das unter Alkalieinfluß in Quellung versetzte Fibrin in

HCl von 1,126 D oder HNO_3 von 1,2 D übertragen, so tritt sofort Entquellung ein, und der Entquellungszustand behauptet sich während geraumer Zeit. Man würde geneigt sein, dabei an eine osmotische Wirkung dieser starken Säuren zu denken, aber dann ergibt sich sofort die Frage, weshalb das Fibrin unter der Einwirkung von stark konzentrierter Essigsäure und Orthophosphorsäure nicht entquillt, sondern im Gegenteil erheblich stark quillt. Möglicherweise bildet das Fibrin mit der Salzsäure, Salpetersäure und dergleichen (z. B. Metaphosphorsäure, Acetessigsäure usw.) in stärkerer Konzentration eine Verbindung. Durch HNO_3 und HCl von noch beträchtlich höherem Gehalt als die oben erwähnten entquillt das Fibrin nicht, es wird im Gegenteil unter Zersetzung gelöst. Es bedürfen diese Verhältnisse einer noch eingehenden Prüfung und Klärung. Ich habe das Verhalten des gequollenen Fibrins konzentrierten Säuren gegenüber denn auch nur deshalb hier erwähnt, um die Aufmerksamkeit darauf zu lenken, daß das unter Alkalieinfluß in Quellung versetzte Fibrin sich diesen Faktoren gegenüber in ganz ähnlicher Weise verhält wie die natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosole.

Entquellung durch gesättigte Neutralsalzlösungen. Bringt man eine unter dem Einfluß sehr schwachen Alkalis (z. B. $^n/_{500}$-NaOH) in Quellung versetzte Fibrinmasse in eine gesättigte Lösung eines Neutralsalzes (NaCl, NaF), so tritt ziemlich rasch Entquellung ein. Es kämen für die entquellende Wirkung dieser Mittel zwei Möglichkeiten in Betracht. Erstens die, daß das Alkali von der starken Salzlösung „gelöst" (wie es beim Wasser der Fall ist) und somit dem Fibrin auf primärem Wege entzogen werden könnte. Und zweitens könnte dem gequollenen Fibrin primär das Quellungswasser infolge einer von der starken Salzlösung ausgeübten osmotischen Wirkung entzogen werden.

Obwohl die zuerst erwähnte Wirkungsweise vielleicht nicht ganz ausgeschlossen werden darf, müssen die gesättigten Neutralsalzlösungen doch vorwiegend ihren Angriffspunkt im Wasser finden. Das geht aus folgendem Versuch hervor. Wird ein durch Alkali in Quellung versetztes Fibrinstäbchen in der Mitte mit einer Schere durchgeschnitten, so daß das eine Teilstück in Wasser und das andere in eine gesättigte Salzlösung über-

tragen wird, so tritt in dem zweiten Falle rasch, in dem ersten Falle nur sehr langsam Entquellung ein. Dazu kommt noch hinzu, daß eine nur verhältnismäßig geringe Menge einer gesättigten Salzlösung genügt, um das gequollene Fibrin zu entquellen. Da Neutralsalzlösungen sonst auf das Alkali keinen Einfluß ausüben können, muß man also zu dem Schluß gelangen, daß dem gequollenen Fibrin von den gesättigten Neutralsalzlösungen Wasser auf direktem, d. h. in diesem Falle naturgemäß auf osmotischem Wege entzogen wird. Mit dem Wasser wird dem gequollenen Fibrin zweifellos ein Teil des Alkalis genommen, wenn auch aller Wahrscheinlichkeit nach ein gewisser Teil des Alkalis in dem Fibrin zurückbleibt. Darauf weist der Umstand hin, daß, wenn man das Fibrin sofort nach der Entquellung in eine kleine Menge Wasser überträgt, aufs neue eine, allerdings geringe, Quellung eintritt. Das ist namentlich der Fall bei der Verwendung einer gesättigten Kochsalzlösung, weniger bei der Benutzung einer gesättigten Fluornatriumlösung. Die Ursache dieses etwas verschiedenen Verhaltens dieser Salze ist mir nicht klar. Übrigens ist für das Gelingen des zuletzt erwähnten Versuchs Vorbedingung, daß das entquollene Fibrin sofort nach der Entquellung in Wasser gebracht wird. Bleibt das Fibrin längere Zeit in der starken Salzlösung liegen, so läßt es sich nachher nicht oder kaum mehr durch Wasser in einen gewissen Quellungszustand versetzen.

Es darf jedoch die Tatsache, daß beim Übertragen in Wasser wieder Quellung eintreten kann, nur mit Wahrscheinlichkeit, nicht mit Sicherheit, allein auf das eventuell in dem Fibrin zurückgebliebene Alkali zurückgeführt werden. Denn es wäre ja zugleich mit der Möglichkeit zu rechnen, daß von einer schwachen Salzlösung (z. B. des Kochsalzes) ein geringer quellender Einfluß auf das Fibrin ausgeübt werden könnte.

Was geschieht nun, wenn das Fibrin, das unter Alkalieinfluß in einen solchen Quellungszustand versetzt worden ist, daß es sich noch dehnen läßt, weiter in der Quellungsflüssigkeit verbleibt? Überläßt man solch gequollenes Fibrin in einem geringen Quantum der Quellungsflüssigkeit sich selbst in einem gut verschlossenen Glasschälchen, so nimmt es noch an

Volum zu und bekommt mit der Zeit ein gallertiges Aussehen. Der innere Zusammenhang des Materials wird dabei allmählich ein lockerer. Es kommt nämlich ein Stadium, in dem das Material sich nicht mehr mit zwei Pinzetten ausdehnen läßt, ohne zu zerreißen. Späterhin wird der Zusammenhang ein so lockerer, daß die Masse schon in Gallertklumpen auseinanderfällt, wenn man sie mit den Pinzetten aufzuheben versucht. Dasselbe tritt dann bereits bei Bearbeitung mit einem Glasstab ein. In diesem Stadium ist das vorher mattweiße Gel auch schon mehr oder weniger durchsichtig geworden, namentlich an seinen Rändern. Aber außerdem ist in dieser Phase bereits ein Teil des Gels in „Lösung" bzw. in Alkalihydrosolzustand übergegangen, und diese Flüssigkeit verhält sich Entquellungsmitteln gegenüber ähnlich wie der noch im Gallertzustande sich vorfindende Teil des Fibrins. Gießt man nämlich die Flüssigkeit von der Gallertmasse ab, indem man die letztere mit einer gesättigten Neutralsalzlösung (NaCl, NaF) übergießt und zugleich die Flüssigkeit in einem Reagensröhrchen mit derselben gesättigten Neutralsalzlösung (von NaCl wenigstens ein gleicher Teil, von NaF zwei Teile) versetzt, so wird die Gallertmasse entquellen, während in der Flüssigkeit Fibrinausscheidung eintritt, zunächst in Form eines weißen Niederschlags, der sich dann in Flöckchen und Fäden verwandelt. Die Analogie tritt noch deutlicher zutage, wenn man nach dem Abgießen der Flüssigkeit die Gallertmasse mit einem Glasstabe möglichst fein zerrührt und erst dann die gesättigte Neutralsalzlösung zusetzt. In diesem Falle findet das gequollene Fibrin sich in der Neutralsalzlösung in Gestalt von Gallertklümpchen vor, die man als gallertige „Flocken" deuten könnte, indem diese nunmehr recht bald unter dem Einfluß der starken Salzlösung in Häutchen verwandelt werden.

Überläßt man die Probe von Anfang bis zum Ende ruhig sich selbst, d. h. bleibt die gequollene Fibrinmasse in der Quellungsflüssigkeit (in einem gut verschlossenen Schälchen), so geht das Fibrin innerhalb weniger als 24 Stunden ganz in Verquellung bzw. Verflüssigung über: die zuvor gequollene Fibrinmasse hat sich eben ganz in ein stark konzentriertes Fibrinalkalihydrosol verwandelt[1]).

[1]) Es kommt bei diesen Versuchen nicht nur auf die Verwendung von sehr schwachem Alkali, sondern auch auf die Mengen dieser Quel-

Fragt man sich nun, wie die näheren Vorgänge bei der Quellung und Gelbildung unter Alkalieinfluß sich gestalten, so kämen dabei naturgemäß dieselben Erwägungen in Betracht, wie ich sie in einem vorhergehenden Aufsatze für die einfache Wässerung des lufttrockenen Fibrins auseinanderzusetzen mich bemüht habe — wenn das Fibrin eben nicht eine gewisse „Affinität“ zu dem Alkali der Quellungs- bzw. Solbildungsflüssigkeit besitzen würde.

Die Quellung des lufttrockenen Fibrins unter Wassereinfluß bzw. die einfache Wässerung geht ganz langsam vor sich und bleibt auf einer niedrigeren Quellungsstufe stehen. Wenn jedoch dem Wasser eine Spur Alkali hinzugesetzt wird oder wenn das lufttrockene Fibrin von vornherein in eine schwache Alkalilösung übertragen wird, so wird verhältnismäßig rasch ein weit höherer Quellungsgrad erreicht, indem der Quellungs- und Dispersitätsgrad schließlich so hoch werden kann, daß das Fibrin in flüssigen bzw. Solzustand übergeht. Es muß hier also eine überwiegende, ursächliche Kraft hinzugekommen sein.

Von den ursächlichen Kräften, von denen bei der einfachen Wässerung hauptsächlich die Rede war: die rein physikalische Capillarwirkung und die wasserad- und absorbierende Kraft der Fibrinsubstanz, bleibt die erstere sich bei der Quellung unter Alkalieinfluß naturgemäß gleich. Es muß also die wasserad- und absorbierende Kraft der Fibrinsubstanz selber (die bei der einfachen Wässerung zweifellos auf einem äußerst niedrigen Alkaligehalt des Fibrins beruht) unter dem Einfluß des Alkalis der Quellungsflüssigkeit außerordentlich erhöht worden sein. Es tritt das Alkali offenbar zu der Fibrinsubstanz — von außen nach innen des Gels und der einzelnen Fädchen fortschreitend — in eine solche Beziehung, daß dem Gel das Vermögen verliehen wird, nicht nur in den inter- und intrafibrillären Capillarräumen

lungs- bzw. Solbildungsflüssigkeit an. Die erwähnten Vorgänge nimmt man nur dann wahr, wenn ein verhältnismäßig geringer Überschuß der schwachen Alkalilösung benutzt wird. Ist der Überschuß der Quellungsflüssigkeit ein zu großer, so treten die verschiedenen Quellungsstadien nicht oder kaum in Erscheinung. Ist dagegen die Menge der Quellungsflüssigkeit so gering bemessen, daß sie restlos von der Fibrinmasse „aufgesaugt“ wird, so verharrt die gequollene Masse (vor Verdunstung geschützt) tagelang in einem mehr oder weniger stark ausgesprochenen Gallertzustande, ohne zu verquellen bzw. zu verflüssigen.

eine größere Menge Wasser einsaugen zu können, sondern daß zugleich die Fibrinsubstanz die Eigenschaft erhält, ein erhebliches Quantum Wasser zu imbibieren. Es wird m. a. W. von der Fibrinsubstanz — d. h. zunächst von den Fädchen, dann von den sie zusammensetzenden länglichen Mikronen und Ultramikronen und schließlich von den Amikronen — Alkali adsorbiert bzw. verdichtet bzw. gespeichert, wodurch das Fibrin die erwähnte Eigenschaft erwirbt. Daß das Alkali bei der Quellung nicht einfach gleichmäßig auf das Quellungswasser und das freie Wasser verteilt wird, bzw. daß das Alkali von der Fibrinsubstanz verdichtet, gespeichert wird, daß also das Fibrin eine gewisse „Affinität" zu dem Alkali besitzen muß, darauf weist schon die früher erwähnte Tatsache hin, daß, wenn eine unter Alkalieinfluß in Quellung versetzte Fibrinmasse an der Luft aufgehängt wird, das Wasser durch Verdampfung verloren geht, indem das Alkali von dem Fibrin zurückgehalten wird. Dies läßt sich außerdem folgendermaßen nachweisen.

Bringt man eine lufttrockene Fibrinmasse (d. h. also die getrocknete wassergequollene Fibrinfasermasse) in eine geringe Menge einer bekannten Alkalilösung (z. B. $^{n}/_{500}$-NaOH) und bestimmt, nachdem ein gewisser Quellungszustand eingetreten ist, den Alkaligehalt der noch im freien Zustand sich vorfindenden umgebenden Flüssigkeit, so stellt sich heraus, daß der Alkalinitätsgrad dieser Flüssigkeit herabgesetzt worden ist. Ganz vermag das Fibrin dem Wasser das Alkali nicht zu entziehen: auch dann, wenn nur eine geringe Menge freier Flüssigkeit übrigbleibt, findet man diese nicht ganz alkalifrei.

Es sei nochmals hervorgehoben, daß es sich bei der Quellung unter dem Einfluß einer wäßrigen Alkalilösung nicht nur um eine größere Flüssigkeitsansammlung in den inter- und intrafibrillären Capillarräumen handeln kann, sondern daß auch die Bausteine der Fibrinfädchen, die länglichen Mikronen und Ultramikronen und schließlich die Amikronen, kurz die Fibrinsubstanz, selber von Wasser durchtränkt werden müssen. Es sind in dieser Hinsicht ähnliche Gesichtspunkte maßgebend, die früher bei der einfachen Wässerung erörtert worden sind: falls bloß eine Flüssigkeitseinsaugung in die inter- und intrafibrillären Capillarräume in Betracht käme, so müßte ja das

Fibrin ganz starr bleiben. Und wir können hinsichtlich der Quellung unter Alkalieinfluß, wo ja die Volumzunahme eine weit größere ist, hinzufügen: so müßte das Gel sofort auseinanderfallen. Das trifft jedoch nicht zu; das lufttrockene Fibrin kann um das Vielfache an Volum zunehmen, ohne zunächst auseinanderzufallen: die gequollene Fibrinmasse behält zunächst ihren Zusammenhang dermaßen bei, daß sie sich mit zwei Pinzetten aufheben und dehnen läßt.

Die das Gel bzw. die Fibrinfädchen bildenden Bausteine bleiben also trotz der erheblichen Volumzunahme des Gels zunächst gegenseitig miteinander in Berührung, was auf keinen anderen Umstand zurückgeführt werden kann als darauf, daß die Bausteine — groß und klein — in einen solch starken Quellungszustand versetzt worden sein müssen, daß sie gegenseitig miteinander in Kontakt bleiben. Es verleiht dann offenbar das adsorbierte bzw. gespeicherte Alkali der Fibrinsubstanz eine so große wasseran- und einsaugende Kraft, daß die gequollenen Mikronen, Ultramikronen und Amikronen ihren Zusammenhang immer mehr verlieren. Und zwar infolge des Umstandes, daß mit der Zeit immer mehr Wasser in die intrafibrillären Räume (d. h. zunächst in die Räume zwischen den Mikronen, dann zwischen den Ultramikronen und schließlich wohl gar zwischen den Amikronen) eingesaugt wird. Die Bausteine werden dementsprechend immer weiter auseinandergetrieben, indem schließlich ihr gegenseitiger Zusammenhang ganz verloren geht, bzw. indem der Quellungs- und Dispersitätsgrad der Fibrinteilchen so hoch wird, daß eine optisch leere Flüssigkeit entsteht. Es ist eben dann aus der trockenen Fibrinmasse unter dem Einfluß des alkalischen Wassers ein disperses System mit flüssiger, d. h. gequollener disperser Phase, bzw. ein Fibrinalkalihydrosol gebildet worden.

In einem in der skizzierten Weise gebildeten Fibrinalkalihydrosol läßt sich nun Gelbildung bzw. Fibrinausscheidung durch dieselben Einflüsse erzeugen, die das durch schwaches Alkali in einen für das Auge wahrnehmbaren Quellungszustand versetzte Fibrin zu entquellen vermögen. Und zwar nicht nur durch schwache (und gewisse starke) Säuren, gesättigte Neutralsalzlösungen usw., sondern ebenfalls durch Wasser (in großem Übermaß) sowie durch Verdunstung bzw. Eintrocknung.

Es dürfte auf Grund der dargelegten Tatsachen der Schluß berechtigt sein:

Daß es sich bei der Verquellung bzw. Verflüssigung des Fibrins unter dem Einfluß von schwachem Alkali nur um einen weiter fortgeschrittenen Quellungszustand des Fibrins handelt;

daß in den in dieser Weise gebildeten Fibrinalkalihydrosolen somit das Fibrin in einem unter Alkalieinfluß wassergequollenen Zustand vorhanden ist, indem die gequollenen Fibrinteilchen dabei zu gleicher Zeit ihren gegenseitigen Zusammenhang so weit verloren haben, daß eine optisch leere Flüssigkeit bzw. ein disperses System mit wirklich flüssiger disperser Phase vorliegt;

daß also zwischen dem Zustand, in dem sich das Fibrin in dem gequollenen Gelzustande vorfindet und dem, in dem das Fibrin in dem Alkalihydrosol enthalten ist, nur ein gradueller, kein grundsätzlicher Unterschied besteht, indem im letzteren Falle nur der Quellungs- und der Dispersitätsgrad der Fibrinteilchen ein größerer ist;

daß schließlich die Gelbildung bzw. die Fibrinausscheidung in einem solchen Fibrinalkalihydrosol auf dem Verlust der gequollenen Fibrinteilchen entweder von Alkali (und somit Wasser) oder von Wasser (und somit eventuell Alkali) beruht, in ähnlicher Weise, wie das bei der Entquellung des durch Alkali in Quellung geratenen Fibrins geschieht.

In dem Falle, wo man zur Herstellung eines Fibrinalkalihydrosols eine größere Menge derselben schwachen Alkalilösung (z. B. $^{n}/_{500}$-NaOH), bei gleichbleibender Fibrinmenge, verwendet, geht die Quellung bzw. Solbildung, wie schon hervorgehoben worden ist, bedeutend rascher vor sich, so daß die verschiedenen Quellungsstadien kaum oder wenigstens nur unvollständig beobachtet werden. Naturgemäß muß auch in den in dieser Weise gebildeten, weniger fibrinreichen, d. h. also schwächer konzentrierten Fibrinalkalihydrosolen, das Fibrin ebenfalls in

einem unter dem Einfluß von Alkali wassergequollenen Zustande vorhanden sein. Denn einerseits ist ja die Vorgeschichte eines solchen Sols grundsätzlich dieselbe wie die der stärker konzentrierten Fibrinalkalihydrosole. Und andererseits läßt sich ja auch in solchen schwächer konzentrierten Fibrinalkalihydrosolen (die den natürlichen Gerinnungsflüssigkeiten mehr entsprechen) ebenfalls von solchen Faktoren, die das unter Alkalieinfluß in Quellung versetzte Fibrin zu entquellen vermögen, Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung erzeugen. Es ist nur insoweit zwischen den stärker und den weniger stark konzentrierten Fibrinalkalihydrosolen (vorausgesetzt, daß beide mit einer gleich schwachen Alkalilösung, nur unter Verwendung verschiedener Mengen, hergestellt worden sind) ein Unterschied vorhanden, als der Dispersitätsgrad der gequollenen Fibrinteilchen in dem letzteren Falle ein größerer ist und offenbar auch der Quellungsgrad. Dies bedingt, daß in dem ersten Falle ganz im allgemeinen weit geringere Einflüsse genügen, um die gequollenen Fibrinteilchen zur Entquellung bzw. um das Fibrin zur Ausscheidung zu bringen als im letzteren Falle.

Über die Adsorption von Ureasen und ihre Wirksamkeit in ungelöster Form.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

Früher habe ich die Adsorption von Fermenten an Fibrinflocken und die Bedingungen der Fixierung und der Ablösung studiert[1]). Die damals gewonnenen Resultate waren für den Mechanismus der Antikörperwirkung aufklärend gewesen. Als nun bei dem Studium der Serumeinwirkung auf Ureasen durch die Auffindung der Auxoureasen Schwierigkeiten neuer Art zu überwinden waren, dachte ich daran, ob vielleicht auch hier Adsorptionsversuche herangezogen werden könnten. Zunächst mußte nun geprüft werden, ob auch die Ureasen durch Fibrinflocken adsorbiert werden. Über diese Versuche wird hier berichtet, während die Beobachtungen über das Verhalten von adsorbierter Urease zu Serum in der nächsten Mitteilung besprochen werden.

Daß die Ureasen in unlöslicher Form ausgezeichnete Fermentwirkungen entfalten können, war mir schon aus mehreren in Gemeinschaft mit Sugga ausgeführten Versuchen bekannt, in denen sich ergeben hatte, daß auch eine durch Alkoholfällung vollkommen wasserunlöslich gemachte Urease kräftig Harnstoff spaltet[2]). Diese Versuche habe ich in dieser Mitteilung weitergeführt.

---

[1]) Zur Kenntnis der Fermente und Antifermente. Diese Zeitschr. **2** bis **4**.

[2]) Diese Zeitschr. **69**.

Versuch.

0,2 g Soja-Urease, die nach dem früher geschilderten Verfahren hergestellt war, werden in 20 ccm Wasser gelöst. Die Lösung wird filtriert und mit 1 ccm Toluol versetzt. In diese 1%ige Ureaselösung werden einige Fibrinflocken, die in allen Versuchen stets aus Hammelblut gewonnen werden, gebracht und über Nacht in den Eisschrank in einem Porzellanschälchen belassen. Dann werden die Fibrinflocken auf Filtrierpapier getrocknet, mit ca. 25 ccm Wasser von neuem übergossen und für 1 Stunde nochmals in den Eisschrank gebracht, wiederum getrocknet und dann bis zum eigentlichen Versuch in etwas Toluolwasser aufbewahrt.

Beim Versuch kommt in jeden Kolben je 1 ccm Olivenöl, um später bei der Destillation das Schäumen zu vermeiden, ferner 1 ccm Toluol, je 20 ccm einer 2%igen Harnstofflösung und endlich eine möglichst gleichgroße Fibrinflocke.

Am nächsten Tage wird das gebildete Ammoniak in der mehrfach geschilderten Weise abdestilliert.

Es war abgespalten in 2 Kontrollen

Ammoniak = 4,8 und 4,7 ccm $^1/_{10}$-Lauge.

Das nächste Versuchsbeispiel wird nun zeigen, daß die Fibrinflocken um so kräftigere Ureasenwirkungen entfalten, je konzentrierter die Fermentlösung war, mit der man sie vorher in Berührung gebracht hatte. Entsprechende Ergebnisse habe ich früher bei den Verdauungsfermenten erhalten.

Versuch.

Verschiedene Portionen Fibrinflocken kommen in je 20 ccm von Ureaselösungen von der Konzentration

1. 5% 2. $2^1/_2$% 3. $1^1/_4$%.

Nach entsprechender Behandlung der Flocken wie im vorigen Versuch werden von jeder Flockenart 2 Versuche angesetzt.

Es wird Ammoniak gebildet

1. 5%	Ureaseflocken	12,5	und	15,5	ccm
2. $2^1/_2$%	„	11,1	„	13,7	„
3. $1^1/_4$%	„	5,8	„	6,8	„

Versuch.

Wiederholung des vorigen, immer nur eine Probe angesetzt:

1. 5 % 14,8 ccm
2. $2^1/_2$ % 11,9 „
3. $1^1/_4$ % 5,6 „

Wir haben dann die zahlreichen Versuche mit Fermentflocken, die für die folgende Mitteilung notwendig waren, durchweg mit Flocken angestellt, die mit Hilfe $2^1/_2$ %iger Ureaselösungen hergestellt waren. Es wurden immer wirksame Flocken erhalten, wenn auch natürlich nicht alle Darstellungen ganz gleich kräftige Präparate ergaben.

Nun möge ein Versuch zeigen, wie stark wirksam Fermentpräparate sind, die durch Alkoholbehandlung ganz wasserunlöslich gemacht worden sind, bei denen also während des eigentlichen Versuches das Ferment nicht mit dem zu spaltenden Harnstoff die Lösung teilt.

Versuch.

1 g Urease wird mit 20 ccm absol. Alkohols übergossen. Man beläßt die Mischung 15 Minuten zusammen und schüttelt sie öfters um. Dann wird der Niederschlag abfiltriert und an der Luft getrocknet. Er ist jetzt fast ganz wasserunlöslich. Wir erhielten 0,9589 g Trockenpräparat.

Je 0,1 dieser unlöslichen Urease brachten wir in der üblichen Weise mit je 20 ccm Harnstofflösung (2 %) zusammen.

Es wurde Ammoniak gebildet 99,7 und 100,1 ccm = 74,5 % des vorhandenen Harnstoffes.

Von diesem Fermentpulver wurde mit je 0,1 g und 5 ccm einer 10 %igen Harnstofflösung für 15 Minuten bei 0° zusammengebracht, dann Sediment und Lösung durch Zentrifugieren getrennt. Der Niederschlag wird mit Wasser ausgewaschen und dann auf Ammoniakbildung geprüft. Der Versuch fiel negativ aus, so daß also Harnstoff nicht am Ferment fixiert geblieben ist. Dieses Ergebnis wird durch die Untersuchung des Abgusses kontrolliert, indem hier keine Abnahme des Stickstoffs, vielmehr eine geringfügige Zunahme des Stickstoffs gefunden wird, die wohl von Spuren des Fermentpulvers, die mit abgegossen sind, herrühren.

Mit demselben Fermentpulver haben wir auch geprüft, ob vielleicht aus kohlensaurem Ammonium durch Einwirkung der Urease Harnstoff entsteht. Wir erhielten aber ein negatives Resultat, als wir auf 20 ccm einer 2$^{0}/_{0}$igen Ammonium carbonicum-Lösung 0,1 g Urease einwirken ließen. Aller Ammoniak wurde wiedergewonnen.

Auch die Urease, die aus dem Samen der Robinia pseudacacia gewonnen wird, läßt sich leicht an Fibrinflocken fixieren. Da die Fermentlösungen weniger wirksam sind als die der Soja-Urease, muß man das Verhältnis zwischen Fermentlösungen und Flocken etwas anders wählen, wenn man entsprechend wirksame Flocken erhalten will. Wir geben hier keine Versuchsbeispiele, weil wir in der nächsten Mitteilung auf diese Versuche zurückkommen müssen.

Bei den Versuchen, die dieser und den folgenden Mitteilungen zugrunde liegen, erfreute ich mich der geschickten und sorgfältigen Mitarbeit von Fräulein Gertrud Kossack, Assistentin des Laboratoriums.

Zur Kenntnis der Ferment-Immunität.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

Schon vor längerer Zeit habe ich mehrfach darauf hingewiesen[1]), daß das Studium der Antikörper und der Immunität gegenüber Fermenten, die verhältnismäßig einfache Substanzen, wie z. B. Harnstoff, verändern, besonders wichtig für die Theorie des Antikörperproblems wäre. Ich habe die Schwierigkeiten hervorgehoben, die hier der Receptorenlehre entgegenstehen. Ehrlichs einfaches Schema ist hier nicht durchführbar. Würde man den Harnstoff mit der Zelle vergleichen, der durch die Urease ähnlich verändert würde, wie etwa die Zelle durch ein Toxin, dann müßte nach der einfachen Receptorenlehre das Antiferment dieselbe haptophore Gruppe wie der Harnstoff enthalten. Ich machte darauf aufmerksam, daß diese Annahme zu der Konsequenz führen würde, bei mehreren verschiedenen Ureasen mit spezifischen Antiureasen auch eine Reihe von spezifischen Gruppen im Harnstoff anzunehmen. Das würde zu unmöglichen Vorstellungen führen. Es wurde dann auseinandergesetzt, wie durch eine auch sonst von mir bevorzugte Auffassung diese Schwierigkeiten wegfallen würden. Natürlich war aber mein Bestreben, sobald sich die Gelegenheit bieten würde, der Frage experimentell näher zu treten. Von diesen Fragestellungen gingen denn auch die in meinem Laboratorium aus-

[1]) Diese Zeitschr. 4.

geführten Untersuchungen von M. Falk aus[1]). Es zeigte sich jedoch gleich, daß vorher andere Punkte geprüft werden mußten, weil ganz neuartige Phänomene zur Beobachtung kamen. Es ergab sich, daß normales Serum sehr erheblich die Wirkung der Soja-Urease verstärkt, die Wirkung der Robinia-Urease fast gar nicht. Bei immunisierten Tieren nahm die Auxosubstanz im Serum ab. Als deutlichstes Anzeichen einer echten Immunitätsreaktion zeigte sich, daß bei Kaninchen, die längere Zeit mit Soja-Urease vorbehandelt waren, injizierte Urease schnell aus dem Blutserum verschwand, während sie bei normalen Tieren einige Zeit darin nachweisbar war.

Die neu aufgefundenen unerwarteten Erscheinungen erforderten zunächst eine eingehende Analyse. Nachdem wir daher ein Urease-Dauer- und Trockenpräparat dargestellt und einige Eigenschaften der Urease studiert hatten, haben wir die Auxowirkung der Urease näher untersucht. Als wichtigste Tatsache ergab sich, daß Aminosäuren ungemein kräftige Auxo-Ureasen für das Sojaferment sind. Die verschiedensten Sera, auch die von Kranken, scheinen ungefähr gleich starke Auxowirkungen zu entfalten[2]).

Es ist nun die Frage zu beantworten, ob das Ferment-Immunitäts-Phänomen, das wir bei der Soja-Urease entdeckt haben, auf eine Antikörperwirkung zurückzuführen ist. Dazu ist es notwendig, das Serum der Kaninchen auf ihren etwaigen Antifermentgehalt untersuchen zu können, während gleichzeitig die Auxowirkungen des Serums ausgeschaltet sind. Es wurde versucht, ob vielleicht die Einwirkung von Serum auf adsorbiertes Ferment eine geeignete Methode wäre. In der Tat habe ich ja früher zeigen können, daß Fermente, die an Fibrinflocken fixiert sind, in dieser Form durch antifermentatives Serum beeinflußt werden. Die Methode hat den Vorzug, daß man das Serum nur vorübergehend auf das Ferment braucht einwirken zu lassen. Nach einiger Zeit kann man das Serum durch Auswaschen wieder entfernen und dann die Fermentwirkung der Fibrinflocken in einem neuen Medium untersuchen.

---

[1]) Diese Zeitschr. 59.
[2]) Diese Zeitschr. 69.

Die Flockenmethode gestattet also, den ganzen Versuch in zwei Phasen zu zerlegen. Wir können in der zweiten Phase der eigentlichen Fermentwirkung die weitere Einwirkung von Serumstoffen, soweit sie nicht durch die Fermentflocken fixiert sind, ausschalten.

In der vorangehenden Mitteilung haben wir gesehen, daß die Soja-Urease sich in ausgezeichneter Weise an Fibrinflocken fixieren läßt und in dieser adsorbierten Form und überhaupt in ungelöstem Zustande eine sichere Wirksamkeit entfaltet. Die Fermentflockenmethode ist in quantitativer Beziehung nicht ideal. Sie erfordert große Übung und Sorgfalt. Dann kann man aber auch, wie reichliche Kontrollen uns lehrten, meistens zu befriedigenden Ergebnissen gelangen.

Zunächst werde ich einige Versuche mit Robinia-Urease schildern, um zu zeigen, wie sich die Flockenversuche bei einer Urease gestalten, für die das Serum nur sehr geringe Auxowirkungen besitzt.

Die Robinia-Urease stellten wir uns, wie früher, selbst aus den Samen von Robinia pseudacacia dar. Die Samen werden gemahlen, mit Petroläther gründlich extrahiert, indem man den Äther 6 mal je 1 Stunde auf das Samenpulver einwirken läßt. Das lufttrockene, entfettete Pulver wird dann mit der fünffachen Menge Wasser unter Zusatz von Toluol 24 Stunden im Eisschrank belassen; dann wird die Flüssigkeit abgesaugt.

In die so erhaltene Flüssigkeit bringen wir dann gut ausgewaschene Hammelfibrinflocken für 24 Stunden im Eisschrank, die Fermentlösung wird dann abgegossen und die Flocken werden zum Auswaschen für 2 Stunden in eine größere Menge Wasser getan.

Für den einzelnen Versuch werden die Flocken auf Fließpapier getrocknet und dann nach Augenmaß gleiche Mengen für jede Probe benutzt. Bei den Serumversuchen kommen die Fermentflocken 15 Minuten in das Serum, werden dann 15 Minuten in 20 ccm Wasser ausgewaschen und dann zum Versuch verwandt. Die Kontrollen ohne Serum kommen in gleicher Weise anstatt in Serum in Kochsalzlösung.

Bei der Verwendung der Fermentflocken kommt also sehr deutlich die vorhandene, wenn auch begrenzte, Hemmungswirkung des Serums zur Geltung. In den Versuchen von Falk und von Jacoby und Umeda waren bei der Robinia-Urease

Tabelle.

Versuche mit Robinia-Ureaseflocken und normalem Serum.

Serummenge ccm	Mit Serum	Ohne Serum	
2,5 2,5	5,0 5,3	9,0 9,8	46 Stunden Brutschrank.
4 4	2,1 2,4	4,2 4,6	24 Stunden Brutschrank.
4 4	8,9 9,8	13,5 14,7	Doppelte Fermentflockenmenge, 48 Stunden Brutschrank.

keine oder nur minimale Verstärkungsausschläge erkennbar, weil wohl bei der gewöhnlichen Methodik sich zwei entgegengesetzte Wirkungen paralysieren.

Bei der Soja-Urease haben wir zunächst geprüft, ob auch die an Fibrinflocken fixierte Urease durch Serum oder Glykokoll in ihrer Wirkung gesteigert wird, wenn diese Auxosubstanzen, wie in den früheren Versuchen, während der Fermenttätigkeit anwesend bleiben. Das ist der Fall, wie die folgende Tabelle zeigt.

Tabelle.

Wirkung der Auxosubstanzen auf Soja-Ureaseflocken während der Fermenttätigkeit.

Auxosubstanz	Mit Serum	Ohne Serum
2 ccm Serum . . . . . 2 ccm Serum	28,2 28,25	15,7 17,2
2 ccm Serum . . . . . 2 ccm Serum	27,4 27,9	14,0 15,5
2 ccm Serum . . . . . 2 ccm Serum	26,0 28,0	14,0 15,5
5 ccm (5 %) Glykokoll . 5 ccm (5 %) Glykokoll .	24,2 24,4	10,7 11,1

Es kommt also auch bei den Versuchen mit fixiertem Enzym die Auxowirkung des Serums voll zur Geltung. Die Serumzahlen der Tabelle stammen zufällig vom Menschen, wir

haben aber ganz entsprechende Werte vom Kaninchen und vom Meerschweinchen.

Nunmehr war festzustellen, ob Antifermente gegen die Soja-Urease nachweisbar sind. Dazu ist Vorbedingung, daß die Auxosubstanzen nicht mehr wirken, wenn man das Serum entfernt, bevor die Fermenttätigkeit beginnt. Diese Bedingung wird mit Sicherheit erfüllt. In zahlreichen Versuchen, von denen wir hier noch keine Beispiele anführen, da wir noch im weiteren Verlaufe solche kennen lernen werden, zeigt es sich, daß die Auxowirkung bei dieser Anordnung ganz oder mindestens fast vollständig verschwindet.

Wir geben zunächst die wenigen Fälle wieder, in denen wir im normalen Serum Hemmungsstoffe gegen die Soja-Urease mit der vervollkommneten Technik haben nachweisen können. Die Fälle, bei denen die Ausschläge so klein waren, daß sie den Fehlergrenzen sich nähern, habe ich weggelassen.

Tabelle.

Antifermente gegen Soja-Urease im Serum von Tieren, die nicht mit Soja-Urease vorbehandelt waren.

Tierart und Menge des Serums	Mit Serum	Ohne Serum	
Kaninchenserum 4 ccm	10,2 11,2	16,0 17,2	Tier früher zu anderen Versuchen benutzt. Serum rötlich.
Kaninchenserum 2 ccm	2,8 3,9	11,3 13,1	Dasselbe Tier, neue Blutentnahme. Serum rötlich.
1 ccm	3,6 3,8	13,2	
Kaninchenserum 4,5 ccm	12,2 12,8	16,8 17,0	Tier früher zu anderen Versuchen. Serum gut.
Kaninchenserum 4,5 ccm	12,7 13,1	16,8 17,0	Tier früher zu anderen Versuchen. Serum gut.
Menschenserum 5 ccm	10,2 10,5	13,2 13,6	Serum milchig.
Meerschweinchenserum 2,5 ccm	5,3 5,3	10,3 10,8	Serum gut.

Neben diesen Fällen, in denen sich im Serum Hemmungsstoffe finden, ist daran festzuhalten, daß in den meisten Fällen

diese Antikörper fehlen. Bei der Flockenmethode hat man es nur mit den Hemmungsstoffen zu tun, während die Auxosubstanzen ausgeschaltet sind. Es scheint also eine Trennung der Hemmungsstoffe und der Auxosubstanzen durch die Flockenmethode in der Art möglich zu sein, daß die Antikörper schon in der ersten Phase wirken, während die Auxosubstanzen erst in der zweiten Phase in Aktion treten. Auf den Mechanismus der Antikörperwirkung brauchen wir in dieser Arbeit nicht einzugehen, da wir bei der Soja-Urease darüber keine Untersuchungen angestellt haben. Früher haben wir ja den überraschenden Nachweis geführt, daß die Antifermente nicht nur durch Fixierung die Fermente ausschalten, sondern direkt auch die Fermente von den Flocken ablösen können.

Die wesentlichste Frage war nun, ob bei der mehr oder weniger lange fortgeführten Vorbehandlung von Kaninchen mit Soja-Urease Antifermente im Blutserum auftreten. Die Untersuchungen von Falk haben ja mit Sicherheit gezeigt, daß nach längerer Zeit der Vorbehandlung zugeführtes Ferment nicht mehr im Blutserum nachweisbar ist. Es war nun festzustellen, ob das durch das Auftreten von Antifermenten bedingt ist.

Von den hier in Betracht kommenden Kaninchen geben wir die Protokolle von zwei längere Zeit in Versuch gewesenen (B und C) und von dem einen ganz kurzen Versuch (A), bei

Kaninchen A.

	Serum-menge	Mit Serum	Ohne Serum	
29. VII.	2 ccm	6,9 9,9	8,0 9,7	Serum hämoglobinhaltig.
3. VIII.	—	—	—	0,5 g Urease.
6. VIII.	3 ccm	9,8 10,0	13,2	Serum ziemlich rot.
9. VIII.	3 ccm	6,2 6,4	12,0	Serum Spur rot.
	1 ccm	4,8 5,1	12,2	
10. VIII.				Tot.

Kaninchen B.

Serum immer tadellos.

	Serum-menge	Mit Serum	Ohne Serum	
7. X.	3 ccm	9,7 10,4	9,5 10,6	
11. X.	bis 18. X.	bis 25. X.	bis 1. XI.	0,3 g Urease.
9. XI.	2 ccm	8,2 8,4	6,1 6,5 7,5 7,7	
	1,4 ccm	4,8 5,0	4,2 4,6 6,15	
	0,5 ccm	6,8 7,1	4,2 4,6 6,15	
11. XI.	—	18. XI.	—	0,4 g Urease.
22. XI.				Tot.

Kaninchen C.

Serum immer tadellos.

	Serum-menge	Mit Serum	Ohne Serum	
7. X.	3 ccm	9,7 11,7	9,5 10,6	
11. X.	18. X.	25. X.	1. XI.	0,3 g Urease.
9. XI.	2 ccm	8,85 10,75	6,1 6,5 7,5 7,7	
	1,4 ccm	6,0 6,7	4,2 4,6 6,15	
11. XI.	u. 18. XI.	—	—	0,4 g Urease.
24. XI.	1,8 ccm	10,9	9,2 10,0	

dem anscheinend Hemmungsstoffe auftraten. Dieser Versuch ist aber insofern auffallend, als sofort danach das Tier starb. Die fortgelassenen 3 Versuche unterscheiden sich nicht von den Versuchen B und C.

Das Verschwinden der Urease aus dem Blutserum ist also nicht durch das Auftreten eines Antifermentes zu erklären. Dadurch engt sich bereits der Kreis der Möglichkeiten des Mechanismus dieses neuen Immunitätsphänomens ein. Wir erkennen, daß die neuartige Beobachtung nicht durch die sonst ausreichenden Faktoren analysierbar ist. Es ist zu hoffen, daß auf anderen Wegen hier Aufklärung zu erreichen ist. Weitere Versuche in dieser Richtung sind im Gange.

Zur Kenntnis der Auxowirkung der Aminosäuren auf Ureasen.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

In einer früheren Mitteilung[1]) wurde gezeigt, daß die Aminosäuren, speziell auch das Glykokoll, sehr intensiv die Wirkung der Soja-Urease verstärken. Obwohl nach verschiedenen Richtungen sich aus dem Vergleich der wirksamen Aminosäuren und der unwirksamen Stoffe schon mit größter Wahrscheinlichkeit ergab, daß bei den Aminosäuren die freie Aminogruppe für die Auxowirkung erforderlich sei, schien es doch wünschenswert, das auch direkt experimentell zu prüfen. Es wurde deshalb untersucht, ob hippursaures Natron Auxowirkung hat. Der Versuch fiel, wie erwartet, negativ aus; es wurde sogar eine gewisse Abschwächung der Ureasewirkung beobachtet.

Ein Versuchsbeispiel zeigt das deutlich.

Es wurden gemischt:

20 ccm einer $2^0/_0$igen Harnstofflösung,
10 ccm einer $0{,}3^0/_0$igen Soja-Ureaselösung,
20 ccm einer $1^0/_0$igen Lösung von hippursaurem Natron,
1 ccm Toluol,
1 ccm Öl.

In den Kontrollen anstatt 20 ccm des hippursauren Natrons 20 ccm Wasser.

Bei der Herstellung der Lösung des hippursauren Natrons

---

[1]) Jacoby und Umeda, diese Zeitschr. 69.

wurde sorgfältig auf ganz neutrale Reaktion geachtet. Es wurde gebildet Ammoniak:

Mit Hippursäure	Ohne Hippursäure
11,8 ccm	17,0 ccm
11,9 „	17,0 „

Als Vergleich sei ein Versuch wiedergegeben, bei dem im Versuch 5 ccm einer $5\,^0/_0$igen Glykokollösung, in der Kontrolle 5 ccm Wasser zugefügt wurden.

Es wurde gebildet Ammoniak:

Mit Glykokoll	Ohne Glykokoll
75,6 ccm	18,5 ccm
76,1 „	18,5 „

So haben wir auch durch die Versuche dieser Mitteilung eine erneute Bestätigung dafür gewonnen, daß der Aminosäurecharakter einer Verbindung für ihre Auxowirkung gegenüber der Soja-Urease ausschlaggebend ist. Damit soll nicht ausgeschlossen werden, daß vielleicht noch andere Auxogruppen vorhanden sind. In einer weiteren Mitteilung werden wir sehen, daß es uns gelungen ist, bei einer anderen Urease eine Auxowirkung von Serum festzustellen, die nicht als Aminosäurewirkung aufzufassen ist.

Über die Einwirkung von antiseptischen Substanzen auf Ureasen.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

Bei Untersuchung der Frage, ob die Harnstoffspaltung durch Bakterien auf Enzymwirkung zurückgeführt werden kann, worüber in weiteren Mitteilungen berichtet wird, fiel es auf, wie empfindlich die bakterielle Harnstoffspaltung gegenüber antiseptischen Substanzen ist. Es stellte sich daher als wünschenswert heraus, auch ein sicheres, lösliches Enzym auf sein Verhalten gegenüber Antisepticis zu untersuchen.

Dabei ergab sich, daß die Soja-Urease, die gegen Toluol ganz unempfindlich ist, außerordentlich empfindlich gegen Senföl, das nach Fuld andere Fermente, z. B. das Labferment gar nicht beeinträchtigt und gegen etwas größere Mengen von Fluornatrium sehr empfindlich ist. Vom Fluornatrium ist auch sonst bekannt, daß es für die Wirkung einiger Fermente störend ist.

Senföl.

Zu 20 ccm einer 2%igen Harnstofflösung und 10 ccm einer 0,3%igen Soja-Ureaselösung wurden gebracht:

	3	2	1	0	Tropfen Senföl.
Es wurde Ammoniak gebildet	4,0	6,1	6,8	46,8	ccm.

Fluornatrium.

Bei Zusatz von verschiedenen Mengen Fluornatrium wurden folgende Werte erhalten:

Kein Fluornatrium		. . . .	46,0	und	47,0 ccm
0,008 g	"	= 0,025 %	44,6	"	45,2 "
0,1 g	"	= 0,33 %	11,8	"	12,2 "
0,4 g	"	= 1,32 %	1,4	"	1,7 "

Diese große Empfindlichkeit der Soja-Urease gegen Fluornatrium und insbesondere gegen Senföl bedarf weiterer Untersuchung. Namentlich wird zu prüfen sein, ob die Inaktivierung durch geeignete Substanzen wieder aufzuheben ist. Bekanntlich hat Hata[1]) vor mehreren Jahren in meinem Laboratorium gezeigt, daß man Enzyme, die durch Quecksilbersublimat inaktiviert waren, durch Einwirkung von Schwefelkalium, Cyankalium und überhaupt von Substanzen, die das Quecksilber entweder ausfällen oder in eine nicht-dissoziierte Form umwandeln, wieder aktivieren kann. Die Fortführung dieser Versuche und ihre Ausdehnung auf Senföl könnte für die Isolierung von Enzymen und für die Erkenntnis ihrer aktiven Gruppen Interesse haben.

---

[1]) Über die Sublimathemmung und die Reaktivierung der Fermentwirkungen. Diese Zeitschr. 17.

Über Harnstoffspaltung durch Bakterien.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

Das häufige Vorkommen sehr wirksamer Ureasen in Pflanzensamen muß zu Betrachtungen darüber auffordern, welche physiologische Bedeutung diesen Enzymen in der Pflanze zukommt. Ferner wäre es wünschenswert, über die Entstehung des Enzyms etwas zu erfahren. In eine ganz bestimmte Richtung wurden meine Erwägungen gelenkt, als ich aus der Literatur entnahm, daß auch bei der Sojapflanze, die so reich an Urease ist, die Bakterien des Bodens ausschlaggebend für die Stickstoffanreicherung in der Pflanze sind, daß ferner ganz bestimmte Knöllchenbakterien Vorbedingung für die Ausbildung der Pflanze ist.

Li-Yu-Ying[1]), ein chinesischer Forscher, hat eine sehr interessante Monographie über die Soja veröffentlicht, die auch in französischer Übersetzung erschienen ist. Hier findet man verschiedene Angaben über die Knöllchenbakterien der Soja. Da es mir bisher nicht möglich war, die Sojabakterien zu beschaffen, so habe ich mich zunächst damit begnügt, die Fragestellung in allgemeiner Fassung in Angriff zu nehmen.

Vorläufig wollte ich aus eigener Anschauung die bakterielle Harnstoffspaltung kennen lernen. Im Hinblick auf das mir vorschwebende Ziel lag es nahe, wenn möglich, eine Bakterienart auf Harnstoffspaltungsvermögen zu prüfen, die vielleicht mit dem Pflanzenwachstum in Beziehung steht.

Durch die Freundlichkeit von Herrn Professor U. Friede-

---

[1]) Li-Yu-Ying u. Grandovinnet, Le Soja, Paris, Challamal 1912.

mann erhielt ich eine Kultur, die durch die Fähigkeit, bei Pflanzen Tumoren zu erzeugen, ausgezeichnet ist. Gleich die ersten Versuche ließen erkennen, daß die betreffenden Bakterien gut Harnstoff spalten.

Über bakterielle Harnstoffspaltung gibt es schon verschiedene Untersuchungen; die Literatur findet sich bei Moll[1]) und in dem Lehrbuch von Kossowicz[2]).

Die allgemeine Anordnung der Versuche war die gleiche wie in den vorangehenden Ureasearbeiten. Antiseptica wurden nur zugefügt, wenn es ausdrücklich vermerkt wurde. Die angewandte Kultur hatte Herr Professor Friedemann längere Zeit gezüchtet. Während unserer Versuche züchteten wir die Bakterien auf Bouillon weiter, sie bewahrten ein auffallend gleichmäßiges Harnstoffspaltungsvermögen. Ferner wurde mehrfach festgestellt, daß sie nicht verunreinigt sind und gute Geschwulstbildner waren.

Schon die große Gleichmäßigkeit der Versuche sprach dafür, daß bei den gewählten Versuchsbedingungen auch ohne Zusatz von Antisepticis während der Versuchszeit keine Störungen durch bakterielle Verunreinigungen in Frage kamen. Wir haben auch mehrfach direkt festgestellt, daß nach der Digestion die Bakterien noch in Reinkultur in den Versuchsproben vorhanden waren.

Wir geben die Mengen des gebildeten Ammoniaks direkt in Kubikzentimeter von $^1/_{10}$-Normalsäure an, ohne den umge-

Tabelle.

Alter der Kultur in Tagen	Wirkung
1	{30,0 30,3
2	{38,2 41,25
3	{33,3 33,3
3	44,5
5	{37,2 39,0
5	{48,0 48,8

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7.

[2]) Bodenbakteriologie, Berlin, Gebr. Bornträger, 1912.

setzten Harnstoff prozentual zu berechnen. Zur Orientierung sei bemerkt, daß immer 20 ccm einer 2 $^0/_0$igen Harnstofflösung verwandt wurden, so daß 134 ccm = 100 $^0/_0$ umgesetzten Harnstoffs entsprechen.

Die ersten Versuchsbeispiele der Tabelle Seite 110 sollen zeigen, wie in beliebig herausgegriffenen Fällen die Wirkung von 1 ccm einer Bouillonkultur unserer Bakterien bei eintägiger Wirkung sich stellte.

Die nachfolgende kleine Tabelle zeigt den Einfluß des Alters der Kulturen bei ein und demselben Versuch. Zu allen Proben war je 2 ccm einer 0,4 $^0/_0$igen Fluornatriumlösung hinzugefügt worden.

Tabelle.

Alter der Kultur in Tagen	Wirkung
2	60,5 60,6
5	67,6 68,5
9	25,9 26,5

Allmählich scheint also die Wirksamkeit der Bacillen abzunehmen.

Während bei den bisherigen Versuchen immer die Versuchszeit nur auf einen Tag beschränkt war, wurde im folgenden der Einfluß einer verschieden langen Versuchszeit geprüft. Es war bei anderen Versuchen aufgefallen, daß bei 48 stündiger Bakterieneinwirkung die Ausschläge größer wurden. Auch in diesem Versuche war überall 2 ccm Fluornatriumlösung (0,4 $^0/_0$) zugefügt worden. Die Kultur war dreitägig.

Tabelle.

Brutschrankeinwirkung in Tagen	Ergebnis
1	54,4 54,6
2	74,4 75,7
3	76,4 76,5

Zunächst scheint also mit der Verlängerung der Einwirkung die Spaltung des Harnstoffs noch wesentlich zuzunehmen. Allmählich aber ist der Fortschritt nur noch unerheblich.

Auch die Menge der Kultur hat einen Einfluß:

1 ccm Kultur: 65,4	0,1 ccm Kultur: 5,6
65,5	6,2

Antiseptischen Mitteln gegenüber ist die bakterielle Harnstoffspaltung sehr empfindlich.

So hebt Toluol die Wirkung fast vollständig auf. Es wurde für jede Probe 2 ccm Kultur verwandt. Die Kulturen wurden vor dem Versuche mit Toluol versetzt, aber auch noch zu jedem Versuchskolben je 1 ccm Toluol getan.

Tabelle.

Alter der Kultur in Tagen	Brutschrankeinwirkung in Tagen	Ergebnis
1	1	{3,3 4,3
2	1	{3,9 3,95
1	2	{6,5 6,8

Ebenso verhindert Senföl die Harnstoffspaltung. — Es wurde eine 2 tägige Kultur verwandt und die Versuchsdauer auf 2 Tage ausgedehnt.

Tabelle.

Senföl in Tropfen	Ergebnis
3	2,7
2	2,5
1	2,1
—	75,8

Auch Fluornatrium läßt in Konzentrationen, die desinfizieren, die Harnstoffspaltung kaum zustande kommen.

Bei Zusatz von 0,4 g Fluornatrium wurde gefunden:

2,1 und 2,3 ccm

Bei den Kontrollen 69,5 „ 69,7 „

In einem anderen Versuche bei 2 tägiger Brutschrankwirkung und 3 tägiger Kultur:

Bei Zusatz von	0,1	g Fluornatrium	45,6	u.	45,8 ccm
„ „ „	0,05	„ „	69,0	„	69,2 „
„ „ „	0,008	„ „	84,3	„	85,2 „

Diese Versuche, die also eine große Empfindlichkeit der Harnstoffspaltung durch Bakterien gegenüber antiseptischen Stoffen zeigen, sprechen sicherlich nicht gegen die Annahme, daß die Spaltung unter dem Einfluß eines Bakterien-Enzyms stattfindet. Auch werden wir uns nicht darüber wundern, daß dieses Enzym so empfindlich gegen chemische Agentien ist. Denn das gleiche oder ein ähnliches Verhalten kennen wir z. B. auch von der Zymase der Hefe. Für die Bakterien-Urease fehlt aber bisher noch der Beweis ihrer Isolierbarkeit. Am ehesten kann man wohl erwarten, mit Hilfe von Methoden, wie es die Auspressung mit Hilfe der Buchnerschen Presse ist, zum Ziele zu kommen. Vorläufig konnte ich leider aus äußeren Gründen diese Versuche nicht ausführen.

Man wird jedenfalls mit einem Endoenzym rechnen müssen. Denn in die als Nährlösung benutzte Bouillon geht kein Enzym über. Das haben wir bei unseren Kulturen gefunden, das hat aber auch für den Mikrococcus ureae schon Moll beobachtet. Moll konnte durch Ausfällung der Bouillon mit Alkohol Niederschläge erhalten, die chlorfrei gewaschen sehr wirksam waren. Aber es ist noch nicht bewiesen, ob hier in dem unlöslichen Pulver ein Enzym das wirksame Agens ist, oder ob die Bakterien die Alkoholbehandlung überstanden haben. Ohne weiteres muß zugegeben werden, daß die vollständige Unlöslichkeit im Wasser nicht gegen die Enzymnatur spricht. Denn wir haben ja für die Soja-Urease, also für ein zweifelsfreies Enzym, ausdrücklich festgestellt, daß man es in einen durchaus unlöslichen Zustand überführen kann, ohne seine Wirksamkeit zu beeinträchtigen.

Bei den von mir benutzten Mikroorganismen ist die Sache ganz eindeutig. Es gelingt auf verschiedene Weise, durch Ausfällung aus den Kulturen wirksame Niederschläge zu erhalten. Aber die Wirksamkeit ist gering und ganz abhängig davon, ob und wieviel lebende Bakterien im Niederschlag vorhanden sind.

Es wurden Versuche mit Alkoholfällung gemacht und zwar mit verschiedenen Konzentrationen; daneben wurde Aceton, Kochsalz und Kieselgur zur Ausfällung verwandt. Die Alkohol-

und Acetonfällungen ergaben so unbedeutend wirksame Präparate, daß ich auf Wiedergabe der betreffenden Protokolle verzichte. Besser war die Aussalzung mit Kochsalz, und am befriedigendsten fielen relativ die Kieselgurversuche aus.

Versuch.

83 ccm einer 4tägigen Kultur werden mit Kochsalz gesättigt, der Niederschlag abzentrifugiert. Das Sediment wird auf einem Filter gesammelt und gibt bei 48stündiger Brutschrankeinwirkung 33 ccm Wirkung, während 1 ccm der Ausgangskultur in 24stündigem Versuch. 28,5 und 28,8 ccm ergaben.

Versuch.

Diesmal wurde eine 3tägige Kultur verwandt. 80 ccm wurden mit Kochsalz gesättigt, und es wurde erst nach 24 Stunden zentrifugiert. Bei 24stündiger Einwirkung des Sedimentes wurde 47,8 erhalten.

Versuch.

5tägige Kultur, je 1 ccm gibt 48,0 und 48,8 ccm. 41 ccm werden mit 10 g Kochsalz versetzt, das Gemisch kommt 24 Stunden in den Eisschrank, dann wird zentrifugiert, das lufttrockene Sediment gibt 36,1 ccm. 43 ccm der Kultur werden mit 1 g Kieselgur gemischt und entsprechend behandelt. Nach kurzem Trocknen an der Luft wog das Sediment 3,5299 g, wovon je 1 g geprüft wurde. Es wurde 61,9 und 62,1 ccm erhalten.

Der übrigbleibende Rest von 1,5299 g wurde weiter getrocknet und wog dann 0,6438 g.

Davon wurden untersucht $2 \times 0,2$ g = 35,8 u. 38,0
und $2 \times 0,1$ „ = 2,6 u. 5,3.

Versuch.

4tägige Kultur, je 1 ccm = 76,7 und 76,8 ccm. 98 ccm Kultur werden mit 0,2 g Kieselgur gemischt. Nach 10 Minuten wird zentrifugiert und das Sediment gewogen = 1,4813 g. Bis zum nächsten Tag an der Luft getrocknet, wog das Sediment 0,6048 g. Davon wurden $2 \times 0,2$ g geprüft = 55,0 und 56,6.

Der Rest von 0,2048 wurde noch 1 Tag länger getrocknet und wog dann 0,0628 g. Davon zum Versuch $2 \times 0,02$ g ergab 2,1 und 3,8.

Versuch.

4tägige Kultur, je 1 ccm = 45,8 und 46,9 ccm.

100 ccm Kultur 0,2 Kieselgur, 48stündige Trocknung des nach 10 Minuten abzentrifugierten Sediments. Das Sediment wog 0,235 g, davon $2 \times 0,1$ = 5,7 und 5,9 ccm.

Aus diesen Versuchen ist also zu entnehmen, daß wir bisher nur die Harnstoffspaltung durch lebende Bakterien beobachtet haben und daß die der Spaltung entsprechende Urease noch zu isolieren ist. Daß nur lebende Bakterien in unseren Versuchen für die Harnstoffspaltung in Betracht kommen, erklärt wohl auch die geringe Wirksamkeit der getrockneten Kieselgursedimente.

Zum Schluß noch einige Worte zu der in der Einleitung berührten Frage. Wenn auch die von mir benutzte Kultur Tumoren bei Pflanzen erzeugte und gleichzeitig Harnstoff spaltete, so besteht doch bisher kein Grund zu der Annahme, daß hier ein Zusammenhang vorhanden ist. Auf diese Probleme kommen wir später noch zurück. Schon heute kann gesagt werden, daß verschiedene Knöllchenbakterien, die ich untersucht habe, Harnstoff nicht spalten. Zur Entscheidung der Frage, inwieweit das Pflanzenwachstum und die Harnstoffspaltung durch Bakterien in Beziehung stehen, habe ich weitere Versuche mit anderen, mir von Herrn Professor Friedemann freundlichst überlassenen Kulturen angestellt, auf deren recht interessante Ergebnisse erst später eingegangen werden kann.

Über die Einwirkung von Serum auf die bakterielle Harnstoffspaltung und über das Problem der Virulenzsteigerung der Bakterien im Tierkörper.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

Da wir bei der Harnstoffspaltung durch Bakterien neben mannigfachen Analogien doch auch charakteristische Unterschiede zu der Soja-Urease gefunden hatten, mußte es für uns von Interesse sein, ob auch hier, wie wir es bei der Soja-Urease beobachtet hatten, Serum die Wirkung steigert. Die Ergebnisse dieser Versuche sind sehr interessant. Denn es zeigte sich, wie wir gleich sehen werden, daß die zwei Auxokörper des Serums, die für die bakterielle Harnstoffspaltung nachweisbar sind, von der Auxosubstanz der Soja-Urease verschieden sind und die dort wirksamen, isolierten Aminosäuren hier versagten.

Wir werden nach Wiedergabe der Versuchsprotokolle darlegen, daß die Steigerung der Bakterienwirkung durch isolierbare Serumsubstanzen eine klare, biologische Bedeutung hat, indem man so der Analyse des Problems der Virulenzänderung im Tierkörper nähertreten kann.

Die Versuchsanordnung schließt sich vollkommen der in der vorigen Mitteilung an. Immer wurden 20 ccm der 2 %igen Harnstofflösung, 1 ccm Kultur verwandt, bei Versuchen mit Serum wurde für die Kontrollen das Serum stets durch Kochsalzlösung ersetzt.

Die ersten Versuche zeigen die Einwirkung von Serum:

		Kontrolle
1.	2 ccm Menschenserum	
	85,0 und 86,2 ccm	47,4 und 49,9
2.	2 ccm Menschenserum	
	85,6 und 86,4 ccm	59,1 und 59,2.

Ebenso wie Menschenserum wirkt auch Kaninchen- und Hammelserum; spätere Versuche, bei denen geprüft wurde, welche Bestandteile des Serums in Frage kommen, lehren das mit Sicherheit.

Bei der Soja-Urease entsprach der Serumwirkung eine außerordentlich starke Wirkung der Aminosäuren, z. B. des Glykokolls. Wir haben uns daher natürlich sogleich darüber orientiert, ob auch die bakterielle Harnstoffspaltung durch die Anwesenheit von Glykokoll gesteigert wird. Das ist nun durchaus nicht der Fall; es wurde umgekehrt immer eine, wenn auch nicht erhebliche, Abschwächung beobachtet.

Der folgende Versuch wurde mit einer 4 Tage alten Kultur angestellt, in alle Proben kam 1 ccm der Kultur, die Kolben blieben einen Tag im Brutschrank. Zugesetzt wurden je 5 ccm einer 5 %igen Glykokolllösung = 0,25 g Glykokoll, bei den Kontrollen dafür 5 ccm Wasser. In einer weiteren Kontrolle wurde geprüft, ob die Bakterien aus Glykokoll direkt Ammoniak abspalten, hier wurden die 20 ccm Harnstofflösung durch Wasser ersetzt und auch 5 ccm der Glykokollösung benutzt, in einer 4. Anordnung endlich dafür 5 ccm Wasser anstatt des Glykokolls verwandt.

Es wurden gefunden:

Ohne Glykokoll 66,0 und 66,9 ccm.
Mit „ 49,0 „ 51,5 „
Ohne Glykokoll und ohne Harnstoff 0,0 und 0,1 ccm.
Mit „ „ „ „ 1,4 „ 2,0 „

Also eine Hemmung der Harnstoffspaltung durch die Gegenwart des Glykokolls und bei Abwesenheit des Harnstoffs eine ganz geringfügige Glykokollspaltung, die noch in die Fehlergrenzen fallen kann.

In einem anderen Versuche:

Ohne Glykokoll 64,3 und 67,6 ccm.
Mit „ 54,6 „ 56,5 „
Ohne Glykokoll und ohne Harnstoff 0,4 und 0,7 ccm.
Mit „ „ „ „ 0,7 „ 1,2 „

In einem weiteren Versuche:

Ohne Glykokoll	69,7	und	71,7 ccm.
Mit „	50,3	„	50,9 „

Da der Versuch mit Glykokoll negativ ausgefallen war, war aus den Beobachtungen bei der Soja-Urease kein direkter Hinweis zu entnehmen, wie wir die Untersuchung in bezug auf die wirksamen Serumbestandteile einrichten sollten. Man mußte also systematisch vorgehen. Am besten kann man wohl beurteilen, ob Isolierungsversuche einige Aussicht bieten, wenn man zunächst sich ein Bild von der quantitativen Seite der Serumwirkung macht. Der folgende Versuch zeigt, daß es sich um eine erhebliche Wirkung handelt. Andere Versuche mit größeren Serummengen übergehen wir, da ja der Versuch mit den kleinsten Mengen die Sachlage am klarsten veranschaulicht. Für diesen Versuch und für mehrere der sich anschließenden Isolierungsversuche benutzte ich mit Erfolg Serum-Trockenpulver, mit dem ich auch bei früherer Gelegenheit sehr befriedigende Resultate erhalten hatte. Frisches Serum wird im Faust-Heimschen Apparat bei Zimmertemperatur, die höchstens auf 30° gesteigert wird, im Luftstrom getrocknet. Man erhält dann ein Pulver, dessen Gewicht ungefähr 10% des Serums entspricht. Es ist sehr haltbar und gestattet, alle zusammengehörigen Versuche unter den gleichen Bedingungen anzustellen.

Zu dem Versuche wurden je 1 ccm einer eintägigen Kultur verwandt:

Getrocknetes Serum	Ergebnis
0,1 g	67,8
	68,3
0,02 g	39,0
	39,5
—	30,0
	30,3

Die weiteren Versuche werden nun Eigenschaften der wirksamen Serumsubstanzen kennen lehren.

Versuch.

8 ccm Kaninchenserum werden mit 48 ccm physiologischer Kochsalzlösung gemischt. Von dem Gemisch werden 26 ccm 20 Minuten auf 70° erhitzt, der Rest als Kontrolle verwandt. Für jede Probe wurden je 14 ccm = 1,7 ccm unverdünnten Serums genommen, den Kontrollen ohne Serum wurde je 14 ccm physiologischer Kochsalzlösung zugefügt.

Tabelle.

Erhitztes Serum	96,8 ccm
	99,8 "
Nichterhitztes Serum . . .	83,6 "
	85,1 "
Kontrolle	41,4 "
	42,7 "

Das Serum ist also durch das Erhitzen noch wirksamer geworden. Jedenfalls wird die wirksame Substanz durch Erhitzen auf 70° nicht zerstört.

Dialysiert man Serum, so geht seine Auxowirkung für die bakterielle Harnstoffspaltung herab, wird aber nicht gänzlich aufgehoben. Es ist demnach anzunehmen, daß nebeneinander im Serum dialysable und nichtdialysable Auxokörper vorhanden sind.

Versuch.

4 ccm normales Kaninchenserum wurde in eine Dialysierhülse (Schleicher & Schüll Nr. 579 a) gebracht und gegen destilliertes Wasser, das alle 10 Minuten gewechselt wurde, dialysiert. Das wurde $2^1/_2$ Stunden fortgesetzt und dann die Dialyse ohne Wasserwechsel auf Eis bis zum übernächsten Tag fortgesetzt. 3,5 ccm desselben Serums werden gleichzeitig aufbewahrt.

Bei der Dialyse nimmt die Menge des Serums auf 4,65 ccm zu, und das Serum wird trübe. Zu dem dialysierten Serum wird 4,7 ccm physiologische Kochsalzlösung, zu den 3,5 ccm nichtdialysierten Serums werden 3,5 ccm Wasser getan. Es werden von den Gemischen je 3 ccm für jede Probe verwandt. Als Kontrolle wurden je 3 ccm einer Mischung von gleichen Teilen Wasser und physiologischer Kochsalzlösung benutzt.

Tabelle.

Dialysiertes Serum	64,3 ccm
	67,8 "
Nichtdialysiertes Serum . .	84,95 "
	87,8 "
Kontrolle	48,9 "
	50,4 "

Versuch.

In entsprechender Versuchsanordnung wurden 4,5 ccm Kaninchenserum dialysiert, die dabei auf 5,7 zunehmen.

Tabelle.

Dialysiertes Serum	76,1 ccm
	77,0 „
Nichtdialysiertes Serum . .	93,5 „
	95,8 „
Kontrolle	54,2 „
	54,4 „

Der Ausfall der Dialyseversuche deutet also darauf hin, daß zwei trennbare Auxosubstanzen des Serums für die bakterielle Harnstoffspaltung in Frage kommen. Zu dem gleichen Ergebnis kommen wir bei Versuchen, in denen Serumtrockenpulver mit Alkohol extrahiert wurde. Sowohl der alkoholunlösliche Anteil wie der -lösliche hatte Auxowirkung. Jedoch ist die Wirkung der durch Alkohol fällbaren Bestandteile des Serums bei weitem stärker.

Versuch.

2 g Menschenserumpulver werden mit 20 ccm Alkohol übergossen, gut durchgerührt und nach 10 Minuten der Alkohol abfiltriert. Das Filtrat wird im Faust-Heimschen Apparat getrocknet, die dabei zurückbleibende Substanz in 10 ccm Wasser aufgenommen, in denen sie sich vollkommen löst. Der alkoholunlösliche Anteil wird in 10 ccm Wasser aufgeschwemmt, die Kontrolle ebenfalls mit 10 ccm Wasser verdünnt.

Tabelle.

Alkoholunlöslich	56,6 ccm
Alkohollöslich	39,9 „
Kontrolle	31,7 „

Der Versuch wurde mit demselben Serumpulver in der Weise wiederholt, daß anstatt 2 g nur 1 g benutzt und mit 10 ccm Alkohol extrahiert wurde. Die fertigen Portionen wurden in je 5 ccm aufgenommen.

Tabelle.

Alkoholunlöslich	63,5 ccm
	65,8 „
Alkohollöslich	43,6 „
	44,6 „
Kontrolle	39,0 „
	39,3 „

Bei einem dritten Versuche wurde nur 0,2 g des Serumpulvers benutzt, das mit 2 ccm Alkohol extrahiert wurde. Die Proben wurden 48 Stunden im Brutschrank belassen, wodurch sich die hohen Werte erklären.

Tabelle.

Alkoholunlöslich	94,5 ccm
	97,3 „
Alkohollöslich	50,1 „
	54,5 „
Kontrolle	53,0 „
	54,4 „

Bei der hier verwandten, sehr geringen Serummenge war also nur noch die Auxowirkung der in Alkohol unlöslichen Serumsubstanz erkennbar. Die alkohollösliche Serumsubstanz ist in viel geringerer Menge im Serum vertreten als die alkoholunlösliche; aber sie ist an und für sich mindestens so wirksam wie die andere. Das lehrt der folgende Versuch.

Versuch.

5 g Hammel-Trockenserum werden mit 50 ccm Alkohol übergossen; das Gemisch wird gut durchgerührt und nach 10 Minuten filtriert. Der Rückstand wiegt lufttrocken 4,7905 g. Das Filtrat wird im Faust-Apparat getrocknet, der Rückstand konnte nur mit Zurücklassung einiger schmieriger Spuren aus der Schale abgekratzt werden; man erhielt so 0,026 g Pulver.

Tabelle.

Alkoholunlöslich . .	0,05	48,6 ccm
		49,1 „
Alkohollöslich . . .	0,026	48,9 „
Kontrolle		37,2 „

Die Versuche müssen noch fortgesetzt werden. Denn es ist noch notwendig, die chemische Natur der festgestellten Auxokörper aufzuklären. Sicher ist in dieser Richtung schon, daß der allgemeine Aminosäurencharakter, den ich bei der Soja-Urease als außerordentlich wirksam erkannt habe, hier keine Bedeutung hat. Es handelt sich ferner um mindestens

zwei Auxokörper des Serums, die beide recht wirksam und bestimmt voneinander verschieden sind. Der eine könnte den Eiweißkörpern nahestehen, wobei hervorzuheben ist, daß seine Wirkung durch Erhitzen auf 70° nicht beeinträchtigt wird.

Auch der nähere Mechanismus der Auxowirkung der Serumsubstanzen bedarf noch der Aufklärung. Daher wäre jede Erörterung hierüber noch verfrüht. Wohl aber ist es bereits an der Zeit, sich die biologische Bedeutung der neuen Befunde klar zu machen. Bekanntlich werden durch eine eigene Sonderwissenschaft, die Serologie, die für die Biologie interessanten Wirkungen des tierischen Serums erforscht. In Betracht kommen Serumwirkungen auf Zellen und auf funktionell wichtige Substanzen, die Zellbestandteile sind oder von Zellen abstammen. Man hat bisher die Hemmungen durch Serum, die Antikörper, ferner die Lysine untersucht, die Zellen zerstören.

In der vorliegenden Arbeit haben wir nun neue Serumstoffe kennen gelernt, die in sehr kleiner Menge, also in wirksamer Weise imstande sind, die durch Bakterien bewirkten Spaltungen zu verstärken, ohne selbst ein derartiges Spaltungsvermögen zu besitzen. Diese Beobachtung ist von Interesse für die Frage der Wirkung der Mikroorganismen im Tierkörper und insbesondere für das Problem der Virulenzsteigerung, die die Mikroorganismen bei der Passage des tierischen Körpers in vielen Fällen erfahren. Die Bakterien zerstören den Wirtsorganismus in der Weise, daß sie auf Kosten des Wirtes leben, sein Zellmaterial aufspalten. Wenn nun der Wirt gezwungen wird, mit Substanzen seines eigenen Serums und voraussichtlich ähnlich auch mit Bestandteilen seiner Zellen dieses ihm schädliche Beginnen zu unterstützen, so kräftigt er den eingedrungenen Feind, und der Schaden wird automatisch immer größer. So leuchtet es ein, daß schließlich der Eindringling in gefährlicherer Rüstung, virulenter, aus dem Kampfe hervorgeht. Da es sich nun hier um chemisch faßbare Substanzen des Serums handelt, so ergibt sich ein Weg zur Analyse des Virulenzproblems, das mithin chemischer Untersuchung zugänglich wird.

Über die Verteilung von Jodverbindungen im Organismus in Beziehung zu ihrer Konstitution.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

Wenn auch die Verteilung der dem Organismus zugeführten Substanzen ebenso von der physikalischen wie von der chemischen Konstitution der Stoffe abhängig ist, so wird doch immer die chemische Konstitution für die Verteilung bedeutsam sein. Denn auch das physikalische Verhalten wird oft mehr oder weniger mit der chemischen Konstitution wechseln. Wenn wir von einem Element, das in pharmako-therapeutischer Absicht dem Körper einverleibt werden soll, die Verteilung feststellen wollen, so wird es darauf ankommen, wie das Molekül als Ganzes konstruiert ist, von dem das Element ein Bestandteil ist. Von größter Wichtigkeit ist es, Moleküle zu vergleichen, die sich nur in geringen Punkten und möglichst eindeutig voneinander unterscheiden, während das auf seine Verteilung zu untersuchende Element in gleicher Weise im Molekül eingefügt ist.

Vor einigen Jahren hatte ich Gelegenheit, nachdem O. Loeb und v. d. Velden[1]) den Äthylester der Dijodbrassidinsäure unter dem Namen Lipojodin in die Therapie eingeführt hatten, diese Säure, ihr Calciumsalz und den Äthylester auf ihre Lipotropie im Organismus zu vergleichen. Um zu sehen, inwieweit die Ester- resp. Salznatur von Bedeutung ist, prüfte ich außerdem

[1]) Therapeut. Monatsh. 1911.

in derselben Versuchsanordnung das monojodbehensaure Calcium (Sajodin) und die Dijodtaririnsäure (Jodostarin).

Es wurden also verglichen:

1. Dijodbrassidinsäure,
2. dijodbrassidinsaures Calcium,
3. Dijodbrassidinsäureäthylester,
4. monojodbehensaures Calcium,
4. Dijodtaririnsäure.

Warum gerade die Lipotropie in Untersuchung gezogen wurde, bedarf keiner besonderen Begründung.

Die Lipotropie kann man entweder als absoluten Wert bestimmen, oder man kann ihre Relation zu der Tropie der Substanzen gegenüber den anderen Geweben des Organismus ermitteln. Wir haben uns nicht mit dem ersten Weg begnügt, obschon die Tabellen später zeigen werden, daß der zweite Weg uns nicht wesentlich über die Ergebnisse der Bestimmung der absoluten Lipotropie hinausgeführt hat. Zum Vergleich haben wir das Blut, die Leber und die Lunge herangezogen. Blut hat die Bedeutung eines Körperbestandteiles, in dem man nach der Applikation der Jodpräparate ziemlich konstante, hohe Jodwerte findet, die Lunge ist ein Organ mit einigermaßen konstanten, niedrigen Jodwerten, die Leber weist hohe, aber schwankende Werte auf.

In allen Versuchen wurde den Tieren die gleiche Jodmenge (0,41 g Jod auf 1 kg Körpergewicht) beigebracht. Dijodbrassidinsäureäthylester, die Säure selbst und ihr Calciumsalz waren von der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel in reinem Zustande als Pulver zur Verfügung gestellt worden, Sajodin und Jodostarin wurden aus der Apotheke bezogen. Sajodin als Pulver, Jodostarin als Tabletten. Mit seltenen Ausnahmen, die in den Tabellen vermerkt sind, wurden die Tiere nach dem gleichen Zeitraum (20 Stunden nach der Beibringung der Jodpräparate) getötet. Die Tötung geschah immer in gleicher Weise durch Verbluten aus der Halsschlagader.

Stets wurden als Versuchstiere Kaninchen benutzt. Das Gewicht der Kaninchen schwankte selbstverständlich in den einzelnen Versuchen, Aber nach Möglichkeit benutzte ich Tiere von nicht verschiedenem Gewicht. Auf keinen Fall konnten Gewichtsunterschiede in Frage kommen. die für die einzelnen Präparate irgendwie die Resultate beeinflussen konnten. Nicht zu vermeiden ist es bei größeren Versuchsreihen, daß der Fettgehalt der einzelnen Versuchstiere schwankt. Im Verlaufe der Versuche überzeugte ich mich, daß der Ernährungszustand der Tiere wohl einen gewissen Einfluß auf die Menge des Jods, das in das Fett

geht, haben könnte. Jedoch auch dieser Umstand ist für unsere Beurteilung nicht entscheidend. Denn auch die hier in Frage kommenden Schwankungen treffen für alle Präparate zu. Um ganz objektiv zu sein, wurde stets schon bei der Sektion der Tiere der Fettgehalt nach einer Skala: Sehr fett, fett oder mittelfett, mager, sehr mager, festgelegt und erst dann die Analysen begonnen.

Da die Präparate nicht wasserlöslich sind, so mußten sie den Versuchstieren als Emulsion in den Magen gebracht werden. Im Anfang bereiteten wir die Emulsion mit Hilfe von reinem Gummi arabicum, später wurde regelmäßig Dextrin benutzt. Die Emulsionen wurden durch einen Trichter in die Schlundsonde gegossen und durch Nachspülen dafür gesorgt, daß sie möglichst vollständig in den Magen gelangten. Im ganzen betrug das zur Emulsion notwendige Wasser etwa 25 ccm, nachgespült wurde ebenfalls mit 25 ccm. Nach der Verabreichung der Jodpräparate wurden die Versuchstiere isoliert in einem Stoffwechselkäfig gehalten und der Urin gesammelt. In der ersten Hälfte der Versuchsreihen haben wir auch immer den Jodgehalt des Urins bestimmt, das später aber unterlassen, da sich dabei keine besonderen Momente ergaben.

In allen Versuchen, bei denen man den Jodgehalt des Blutes bestimmte, wurde eine Kanüle in die Carotis eingeführt, aus der dann das Blut direkt in die Wägegläschen und Versuchsschalen floß. Um jede Verdunstung auszuschalten, wurden die Gefäße dann sofort gewogen.

Nach beendeter Entblutung wird das Tier vom Bauch aus aufgeschnitten und das Fett unter möglichster Vorsicht entnommen, so daß jede Beimengung von Blut oder Harn, den Hauptträgern des Jods, vermieden wird. In erster Linie wurde stets Fett der Nierenkapsel gewählt. Falls das nicht reichte, wurde es durch Herzbeutelfett, in seltenen Fällen durch Netzfett ergänzt. Das entnommene Fett wird schnell mit der Schere kleingeschnitten, durchgemischt und dann die einzelnen Portionen abgewogen. In den ersten Versuchen wurden 3 bis 4 g, später 1,5 bis 2 g pro Analyse benutzt. Die Wägung erfolgte auf Fließpapier. Mit dem Papier zusammen wurde das Fett in eine geräumige Nickelschale geworfen, mit etwas Wasser übergossen und mit Ätzkali in Substanz versetzt. Das so vorbereitete Fett resp. das entsprechend behandelte Blut kommt dann für 2 Stunden auf ein kochendes Wasserbad, wobei die Hauptmenge des Wassers fortgeht und Verseifung eintritt. Nunmehr wird die Nickelschale auf einem Tondreieck über einem mit Drahtgaze bedeckten Bunsenbrenner erhitzt, bis alles Wasser verdampft ist. Dann wird mit starker Flamme erwärmt, wobei sich besonders beim Fett Dämpfe bilden, die den bekannten Geruch nach angebranntem oder verbranntem Fett haben. Diese Gasbildung ist bei der Fettverarbeitung unvermeidlich, nach dem Ausfall der Kontrollanalysen aber sicher auch ohne Schaden. Hat die Entwicklung der Dämpfe aufgehört, so wird die Flamme entfernt und in die heiße Schale fein gepulvertes Natriumnitrat getan. Hierbei findet meistens schon von selbst — ohne Glüherschei-

nung — ein Weißwerden des Schaleninhalts statt. Es wird dann noch langsam mehr Nitrat zugesetzt, die Flamme wieder unter die Schale gestellt und unter andauerndem Umrühren mit einem Metallspatel erwärmt, bis alles gleichmäßig grau oder weiß ist.

Nach dem Erkalten der Schmelze wird der Schaleninhalt mit Wasser aufgenommen, quantitativ filtriert, auf 100 ccm aufgefüllt, und in je 25 resp. 50 ccm wird durch Zusatz von 30°/₀iger Schwefelsäure und 10 ccm Schwefelkohlenstoff das Jod bestimmt. Die Bestimmung erfolgt colorimetrisch in den von Howald angegebenen Gefäßen. Die Vergleichslösung enthält eine entsprechende Menge Natriumsulfatlösung und außerdem einige Tropfen Natriumnitrit.

Titriert wird mit einer 0,2°/₀₀igen Jodkalilösung.

Leber und Lunge wird ganz entsprechend verarbeitet. Kontrollen der Analysen werden insofern doppelt durchgeführt, als von Anfang an schon zwei Anteile der einzelnen Gewebe verarbeitet und eventuell außerdem noch die colorimetrische Bestimmung mit zwei Portionen der von jeder Probe erhaltenen Schlußflüssigkeit ausgeführt werden. Häufig wurden die colorimetrischen Ablesungen unabhängig von mehreren Beobachtern vorgenommen, wobei durchaus übereinstimmende Werte erhalten wurden. Bei hinreichender Farbempfindlichkeit und Übung macht die Colorimetrie des Jods keine Schwierigkeiten. Kontrollversuche lehrten, daß man durchaus befriedigende Werte mit der angewandten Methode erhält.

Alle Jodmengen werden so angegeben, daß bestimmt wird, wieviel Milligramm Jod sich in 1 g Trockensubstanz des betreffenden Gewebes finden. Die Trockensubstanzbestimmungen wurden so vorgenommen, daß die Organteile resp. das Blut sofort nach der Entnahme resp. der Zerkleinerung gewogen und bei 105 bis 110° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurden.

Um volle Klarheit über die Ausführung der Versuche zu schaffen, sei nun noch ein Versuchsbeispiel wiedergegeben, das erläutert, auf welche Weise alle Versuche angestellt wurden:

Versuch Nr. 14 vom 29. X. 12.

Ein Kaninchen von 2230 g erhält 3,657 g monojodbehensaures Calcium als Emulsion mit 5 g Dextrin und im ganzen 50 ccm Wasser per Schlundsonde. Nach 20 Stunden wird es durch Verbluten aus der Carotis getötet. Das Tier war „mittelfett“.

Es werden verarbeitet:

2 Fettportionen . . . . . à 1,5 g,
2 Lungenportionen . . . . à 2,0 g,

2 Blutproben:

1. . . . . 8,480 g,
2. . . . . 4,1585 g.

1. Fettportion:

75 ccm der 100 ccm Schmelzlösung verbrauchten 0,5 ccm der JK-Lösung.

2. Fettportion:

75 ccm der 100 ccm Schmelzlösung verbrauchten 0,6 ccm der JK-Lösung.

Im Mittel verbrauchten also 100 ccm 0,732 ccm JK-Lösung, also enthalten 1,5 g Fett **0,1095 mg** J.

1. Lungenportion:

75 ccm der 100 ccm Schmelzlösung verbrauchten 0,5 ccm der JK-Lösung.

2. Lungenportion:

75 ccm der 100 ccm Schmelzlösung verbrauchten 0,6 ccm der JK-Lösung.

Im Mittel verbrauchten also 100 ccm 0,732 ccm der JK-Lösung, also enthalten 2,0 g Lunge **0,1095 mg** J.

1. Blutportion:

50 ccm der 100 ccm Schmelzlösung verbrauchten 1,3 ccm der JK-Lösung, 100 ccm also 2,6 ccm der JK-Lösung, also enthalten 8,480 g Blut **0,390 mg** J.

2. Blutportion:

50 ccm der 100 ccm Schmelzlösung verbrauchten 0,7 ccm der JK-Lösung, 100 ccm also 1,4 ccm der JK-Lösung, also enthalten 4,1585 g Blut **0,210 mg** J.

Trockenbestimmungen (getrocknet bei ca. 105°).

0,500 g frisches Fett wiegt trocken . . 0,4434 g
1,000 g " " " " . . 0,8605 g

Mittel für 1 g Fett 0,873 g = 87,3%.

1 g frische Lunge wiegt trocken . . . 0,2030 g
1 g " " " " . . . 0,2125 g

Mittel 0,2082 g = 20,8%.

4,4517 g Blut wiegen trocken . . . . 0,8270 g
3,2080 g " " " . . . . 0,5620 g

= 18,0%.

1 g Trockenfett enthält . . 0,0836 mg J.
1 g Trockenlunge „ . . 0,397 „ J.
1 g Trockenblut „ . . 0,259 „ J.

Nunmehr mögen die folgenden Tabellen (I bis V) die Ergebnisse der Tierversuche zeigen:

Tabelle I.

Dijodbrassidinsäure.

Fettzustand des Tieres	Gewicht des Tieres g	Jod in 1 g				Bemerkungen
		Trockenfett mg	Trockenblut mg	Trockenleber mg	Trockenlunge mg	
Sehr fett	3270	0	—	—	—	
Mittelfett	1450	0,045	—	0,24	—	
„	2200	0	0,33	—	0,3	
„	2170	0	—	0,66	—	

Tabelle II.

Dijodbrassidinsaures Calcium.

Fettzustand des Tieres	Gewicht des Tieres g	Jod in 1 g				Bemerkungen
		Trockenfett mg	Trockenblut mg	Trockenleber mg	Trockenlunge mg	
Sehr mager	2450	0,298	—	0,125	—	Tuberkuloseverdacht
„ „	1400	0,133	—	0,105	—	
Fett	2450	0,075	0,203	—	0,280	
„	2100	0	0,65	—	—	

Tabelle III.

Dijodbrassidinsäureäthylester.

Fettzustand des Tieres	Gewicht des Tieres g	Jod in 1 g				Bemerkungen
		Trockenfett mg	Trockenblut mg	Trockenleber mg	Trockenlunge mg	
Sehr fett	3660	0,050	—	0,122	—	
Mittelfett	1600	0,050	—	0,17	—	
„	1670	0,074	—	0,082	—	Tier erst 4 Tage nach der Jodgabe getötet.
Fett	2330	0,102	0,576	—	0,225	
Sehr fett	1730	0 (Spürchen)	0,255	0,531	—	Tier nach 2 Tagen getötet, hat keinen Harn gelassen.
Fett	2055	0	0,461	—	—	

Tabelle IV.

Monojodbehensaures Calcium.

Fettzustand des Tieres	Gewicht des Tieres g	Jod in 1 g				Bemerkungen
		Trockenfett mg	Trockenblut mg	Trockenleber mg	Trockenlunge mg	
Sehr fett	3550	Spürchen	—	0,29	—	
Sehr mager	1470	0,204	—	0,495	—	
Mittelfett	2230	0,0836	0,257	—	0,397	
Sehr fett	2150	0,238	0,725	—	—	

Tabelle V.

Dijodtaririnsäure.

Fettzustand des Tieres	Gewicht des Tieres g	Jod in 1 g				Bemerkungen
		Trockenfett mg	Trockenblut mg	Trockenleber mg	Trockenlunge mg	
Mager	2920	0	—	0,12	—	
Mittelfett	1530	0,124	—	0,187	—	Hat 1500 ccm Harn gelassen, die im ganzen nur 0,525 mg J enthalten.
"	1930	0	0,687	—	0,60	
"	1730	0	0,570	—	0	Tier erst nach 2 Tagen getötet.
Sehr mager	2000	0	0,565	—	—	

Eine Übersichtstabelle faßt noch einmal die Fettwerte allein zusammen.

Übersichtstabelle.

Nr.	Jodgehalt im Fett mg	Substanz
1	0	Dijodbrassidinsäure
2	0,045	do.
3	0	do.
4	0	do.
5	0,298	Dijodbrassidinsaures Calcium
6	0,183	do.
7	0,075	do.
8	0	do.
9	0,050	Dijodbrassidinsäureäthylester
10	0,050	do.
11	0,074	do.
12	0,102	do.
13	0 (Spürchen)	do.
14	0	do.

Übersichtstabelle (Fortsetzung).

Nr.	Jodgehalt im Fett mg	Substanz
15	Spürchen	Monojodbehensaures Calcium
16	0,204	do.
17	0,0836	do.
18	0,238	do.
19	0	Dijodtaririnsäure
20	0,124	do.
21	0	do.
22	0	do.
23	0	do.

Zum Vergleich mit unseren Analysen können wir aus der Literatur noch Angaben von O. Loeb und v. d. Velden[1]), Bachem[2]) und von Strangmeyer[3]), einem Schüler O. Loebs, heranziehen, aus denen auch hervorgeht, daß der Dijodbrassidinsäureäthylester deutlich lipotrop, die verschiedensten Säuren aber nicht lipotrop sind.

Ganz klar geht aus unseren eigenen Versuchen die besonders starke Lipotropie der Salze und die fehlende Lipotropie der freien Säuren hervor.

Herrn Dr. Bruno Rewald danke ich bestens für seine wertvolle Unterstützung bei den zahlreichen Analysen.

[1]) Therapeut. Monatsh. 1911.

[2]) Münch. med. Wochenschr. 1911.

[3]) Beiträge zur Pharmakologie des Jods. Dissert. Göttingen 1913.

Über die Ausscheidung von Magnesium durch den Harn.

Von

Martin Jacoby.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1916.)

Die Behandlung des Tetanus mit sehr hohen Dosen von Magnesiasalzen ermöglicht es, über die Ausscheidung des Magnesiums durch den Harn des Menschen einiges zu erfahren. Im September 1914 hatte ich Gelegenheit, einen derartigen Harn zu untersuchen.

Es handelte sich um einen Patienten, der am 4. IX. 1914 mit ausgebildeten Symptomen in das Krankenhaus eintrat und zunächst ohne sichtbaren Erfolg mit Tetanus-Antitoxin behandelt wurde. Am 7. IX. wurde zum ersten Male 10 ccm einer 25%igen Lösung von Magnesium sulfuricum injiziert. Am 24. IX. wurde die Behandlung ausgesetzt. Der Patient hatte im ganzen 530 ccm einer 25%igen Lösung von Magnesium sulfuricum subcutan erhalten; der Erfolg war ausgezeichnet, Patient konnte geheilt entlassen werden [1]).

Magnesium und Kalk wurden durch Wägung bestimmt, alle Analysen doppelt ausgeführt.

Der Harn reagierte meist schwach sauer, gelegentlich neutral; während der Magnesiumbehandlung enthielt er etwas Eiweiß.

Die in der Tabelle zusammengestellten Werte können und sollen natürlich nichts über die Gesamtausscheidung des Magnesiums aussagen. Das ist deswegen unmöglich, weil die Hauptmenge des Magnesiums ebenso wie des Calciums wohl den

---

[1]) v. Roznowski, Zur Magnesiumsulfattherapie des Tetanus. Therap. d. Gegenw. **1914**, Heft 11.

	Menge	spez. Gew.	MgO	MgO im Liter	CaO	CaO im Liter	Bemerkungen
15./16. IX.	1050	1013	0,7847	0,740	0,1990	0,183	Vom 11. bis 15. IX. tägl. 2mal 10 ccm Magn. sulfur. (25 %).
16./17. IX.	2435	1008	0,5246	0,216	0,4136	0,169	Vom 16. bis 24. IX. 4mal täglich 10 ccm Magnesium sulfuricum (25 %).
17./18. IX.	2740	1008	0,7233	0,264	0,3802	0,140	
18./19. IX.	3052	1013	0,6935	0,216	0,6069	0,199	
19./20. IX.	2140	1013	0,8775	0,415	0,3638	0,170	
28./29. IX.	3030	1015	0,1408	0,046	0,4727	0,156	
29./30. IX.	2118	1011	0,1162	0,055	0,4007	0,189	
30. IX./1. X.	2665	1016	0,1374	0,055	0,3147	0,189	
15./16. X.	2615	1024	0,1681	0,065	0,8658	0,333	
17./18. X.	2020	1021	0,1695	0,085	0,5470	0,274	
18./19. X.	1415	1020	0,1130	0,078	0,3754	0,259	

Körper durch den Darm verläßt. Man sieht aber, daß bei der Überladung des Blutes mit Magnesium die Niere das Magnesium in erheblich größerer Konzentration als das Calcium ausscheidet, auch die absoluten Mengen sind größer als die des Calciums. Nach dem Abschluß der Magnesiumzufuhr stellt sich sehr schnell das normale Verhältnis wieder her. Auffallend ist, daß nachher besonders hohe Kalkwerte gefunden wurden.

Nach Stransky[1]) führen bei Versuchstieren subcutan injizierte Magnesiumsalzmengen, die Narkose erzeugen, zu einer starken Vermehrung des Magnesiumgehaltes des Blutplasmas. In anderen Organen wurde kaum eine Vermehrung des Magnesiumgehaltes gefunden. Gleichzeitig sinkt der Calciumgehalt des Blutplasmas. Während in der Norm das Calcium stark überwiegt, ist das während der Magnesiumnarkose umgekehrt. Dieses Verhältnis bleibt auch nach dem Aufwachen noch bestehen. Ein bestimmter Wert des Quotienten Ca : Mg scheint die Narkose zu bedingen. Schon während der Narkose wird viel Magnesium durch den Harn ausgeschieden.

Bekanntlich besteht pharmakologisch ein ausgesprochener Antagonismus zwischen den Kalk- und den Magnesiumverbindungen. Nach Schütz erstreckt sich dieses Verhältnis auch auf die Speicherung im Gehirn. Schütz[2]) schreibt: „Bei mehr-

[1]) Untersuchungen über die Magnesiumnarkose, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **80**, 122.

[2]) Zur Kenntnis der Magnesiumnarkose, Wiener klin. Wochenschr. 1913. Nr. 13.

maliger Injektion von schlafmachenden Dosen ließ sich im Gehirn eine Anreicherung von Mg bis zu 1 °/₀₀ (auf Trockensubstanz berechnet) nachweisen. Diese Anreicherung von Mg im Gehirn scheint bei gleichzeitiger Injektion von etwa äquivalenten Mengen $CaCl_2$ (wodurch zugleich die Narkose verhindert wird) gehemmt zu werden.“ Bei der Gelegenheit sei darauf hingewiesen, daß das Atophan, das als entzündungswidriges Mittel nach Starkenstein und Dohrn[1]) das Calcium anscheinend vollkommen vertreten kann, dem Magnesium gegenüber durchaus versagt. Denn ich fand in darauf gerichteten Versuchen keine Spur einer Verminderung der Magnesiumwirkung bei Kaninchen, die längere Zeit mit Atophan vorbehandelt waren, während bei solchen die Entzündungswirkung des Senföls versagt.

[1]) Über die entzündungswidrige Eigenschaft des Atophans und einiger anderer Carbonsäuren. Therapie der Gegenwart 1913, Heft 5.

Einige Bemerkungen bei der Berechnung der Dissoziationskonstanten extrem schwacher Säuren und Basen.

Von

Karl H. A. Melander.

(Aus dem elektrochemischen Laboratorium der kgl. Technischen Hochschule, Stockholm.)

(Eingegangen am 1. Februar 1916.)

Bei der Bestimmung der Stärke sehr schwacher Säuren (Basen) hat man in neuerer Zeit versucht, durch Messung der Wasserstoffionenkonzentrationen in Mischungen der betreffenden Säure mit Natronlauge ihre Dissoziationskonstanten festzustellen. Ein Forscher, der sich auf diesem Gebiete sehr verdient gemacht hat, ist L. Michaelis[1]).

Vergleicht man indessen die Konstanten, die in genannter Weise erhalten wurden, mit denen in anderer Weise bestimmten, so sieht man, daß die elektrischen Messungen in der Regel bedeutend höhere Werte gegeben haben.

(Siehe 1., wo eine Zusammenstellung zu finden ist.)

Eine nähere Prüfung zeigt, daß dies seinen Grund hat in der Anwendung einer fehlerhaften Formel zur Berechnung der auf elektrischem Wege bestimmten Dissoziationskonstanten.

Im Anschluss an Michaelis[1]) machen wir nun folgende Ableitung, wobei wir uns der Bezeichnungen bedienen, die er eingeführt hat.

Angenommen sei eine Natronlauge, in der das Hydrat vollständig dissoziiert ist. In der Lösung haben wir also $\overset{+}{Na}$, $\overline{OH}$ und eine unbedeutende Anzahl $\overset{+}{H}$ Ionen. Wird nun eine schwache Säure zugesetzt, so finden folgende Reaktionen statt

$$m \cdot HS + m \cdot (\overset{+}{Na} + \overline{OH}) = m \cdot H_2O + m \cdot \overset{+}{Na} + m \cdot \overline{S}$$

$$n\, HS + n \cdot (\overset{+}{Na} + \overline{OH}) = n\, H_2O + n \cdot NaS$$

m + n Moleküle HS reagieren demnach mit ebensovielen Molekülen Na·OH zur Bildung von $m \cdot st \cdot \overset{+}{Na}$, $m \cdot st \cdot \overline{S}$ Ionen und $n \cdot st \cdot$ undissoziierten NaS Molekülen.

[1]) Diese Zeitschr. **49**, 232, 1913; **65**, 360, 1914.

In unserer Lösung herrschen demnach die Gleichgewichte.

$$HS + \overline{OH} \rightleftarrows H_2O + \bar{S} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; (1)$$

$$HS + \overset{+}{Na} + \overline{OH} \rightleftarrows H_2O + NaS \quad . \; . \; . \; . \; (2)$$

Man sieht ohne weiteres, daß die Anzahl $\overline{OH}$ Ionen, die verschwunden sind, d. h. der Unterschied in Hydroxylionkonzentration vor und nach dem Säurezusatz der Anzahl $\bar{S}$ und NaS, die gebildet werden, gleich ist.

Demnach

$$\Delta_{\overline{OH}} = [\bar{S}] + [NaS] \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; (3)$$

(**Michaelis** hat $\Delta_{\overline{OH}} = [\bar{S}]$).

Wir definieren nun γ den „Dissoziationsgrad".

$$\gamma = \frac{[\bar{S}]}{[\bar{S}] + [NaS]} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; (4)$$

oder

$$[NaS] = \left(\frac{1}{\gamma} - 1\right) \cdot [\bar{S}].$$

Dieser Wert eingesetzt in die Gleichung (3) gibt

$$\Delta_{\overline{OH}} = \frac{1}{\gamma} \cdot [\bar{S}].$$

Ferner ist

$$[HS] = [S] - [\bar{S}] - [NaS] = [S] - \Delta_{\overline{OH}} \quad . \; . \; . \; (6)$$

Die Dissoziationskonstante der Säure ist

$$k = \frac{[\overset{+}{H}][\bar{S}]}{[HS]} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; (7)$$

Mit Hilfe von (5) und (6) erhält man

$$k = \gamma \cdot \frac{[\overset{+}{H}] \cdot \Delta_{\overline{OH}}}{[S] - \Delta_{\overline{OH}}} \quad . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; . \; (8)$$

Diese Formel unterscheidet sich von der von **Michaelis** angewendeten dadurch, daß γ im Zähler und nicht unter $\Delta_{\overline{OH}}$ im Nenner steht. Es ist demnach klar, da γ zwischen 0 und 1 liegt, warum die Werte des genannten Forschers relativ hoch sind. Um die richtigen zu erhalten, haben wir also seine Dissoziationskonstanten, berechnet für $\gamma = 1$ zu nehmen und diese Ziffern mit einem abgeschätzten Dissoziationsgrad zu multiplizieren.

Wir werden nun untersuchen, welche Werte γ für respektive $[S] = 0$ und $[\overset{+}{Na}] = 0$ annimmt.

Die Gleichgewichtsreaktionen (1) und (2) ergeben

$$k_1 = \frac{[HS][\overline{OH}]}{[\bar{S}]} \quad \ldots\ldots\ldots \quad (9)$$

$$k_2 = \frac{[HS][\overset{+}{Na}][\overline{OH}]}{[NaS]} \quad \ldots\ldots \quad (10)$$

oder

$$\frac{k_2}{k_1} = K = \frac{[\overset{+}{Na}][\bar{S}]}{[NaS]} \quad \ldots\ldots \quad (11)$$

Eine Relation, die natürlich direkt niedergeschrieben werden kann. Die Gleichung (4) wird umgeformt.

$$\gamma = \frac{1}{1 + \frac{[NaS]}{[\bar{S}]}}.$$

Mit Hilfe von (11) erhält man

$$\gamma = \frac{1}{1 + \frac{[\overset{+}{Na}]}{K}} \quad \ldots\ldots\ldots \quad (12)$$

Hieraus geht hervor:

I. Wenn man zu einer vollständig dissoziierten Natriumhydratlösung mehr und mehr von einer schwachen Säure zusetzt, wird $[\bar{S}]$ schneller wachsen als [NaS], d. h. γ steigt. Ist die Hydratlösung a-normal, so nimmt γ den Wert $\frac{1}{1 + \frac{a}{K}}$ für $[S] = 0$ an.

II. Wenn wiederum zu einer Säurelösung mehr und mehr Natronlauge zugesetzt wird, vermindert sich γ.

Für $[\overset{+}{Na}] = 0$ ist $\gamma = 1$.

Fall II gestattet eine Berechnung von Dissoziationskonstanten. In einem Koordinatensystem setzen wir als Ordinaten $\frac{k}{\gamma}$ berechnet nach der Formel (8) und die Natronhydratkonzentration als Abszisse ab. Die Kurve wird ausgezogen, bis sie die $\frac{1}{\gamma}$ Achse trifft. Das Stück, das zwischen diesem Schnittpunkt und Origo liegt, ist offenbar ein oberer Grenzwert der gedachten Konstante, die für den Fall, daß die Hydratlösung sehr verdünnt ist, nahe dem wirklichen Werte liegen muß.

Der Verfasser ist mit derartigen Messungen beschäftigt.

Kritische Betrachtungen über die aktiven Zimtsäuren.[1])

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Kaiserlichen Biologischen Anstalt zu Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 22. Januar 1916.)

Die Frage, ob es optisch aktive Zimtsäuren gibt, ist gleichbedeutend mit der Frage, ob die in den optisch aktiven Derivaten der Zimtsäure der allgemeinen Formeln

$$C_6H_5—CH\,X—CH_2—COOH$$

oder

$$C_6H_5—CH\,X—CH\,X—COOH$$

enthaltenen asymmetrischen, zweiwertigen Radikale, die in der von mir für solche Betrachtungen benutzten Lückenformel[2])

$$C_6H_5—CH\,L—CH\,L—COOH$$

zu schreiben sind, unter bestimmten, bisher nicht gekannten Bedingungen als solche, d. h. mit freien Affinitäten vorübergehend beständig sein können.

Der Nachweis der Existenz von mehr als drei isomeren Zimtsäuren brachte bereits die Lehre von der geometrischen Isomerie bei den ungesättigten Verbindungen zu Fall und zwang zur räumlichen Betrachtung, die wiederum nur möglich wird, nach dem Aufgeben der Vorstellung der Doppelbindung, durch die Annahme freier Affinitäten bei ungesättigten Verbindungen.

Unter dieser Voraussetzung und entsprechend der von mir kürzlich mitgeteilten Theorie[3]) war zu erwarten, daß sich,

---

[1]) Diese Zeitschr. 67, 296, 1914.

[2]) Diese Zeitschr. 64, 351, 1914.

[3]) l. c.

wenn auch nicht bei allen, so doch bei einzelnen ungesättigten Verbindungen der Nachweis erbringen ließ, daß sie unter geeigneten Bedingungen in optisch aktiven, hemiedrisch krystallisierenden Modifikationen bestehen können.

Während für die räumliche Auffassung der ungesättigten Verbindungen, ihre Richtigkeit vorausgesetzt, die Möglichkeit besteht, einen positiven Beweis zu erbringen, kann sich die geometrische Auffassung nicht auf positive Befunde stützen, sondern konnte nur deshalb für wahrscheinlich gelten, da bei ungesättigten Verbindungen bislang nicht mehr als zwei isomere Modifikationen auffindbar waren, so wie es die geometrische Theorie verlangt, und da es in keinem Falle gelungen war, mit Sicherheit bei einer ungesättigten Verbindung das Vorkommen optisch aktiver Formen nachzuweisen.

Die danach allein durch negative Befunde gestützte geometrische Auffassung mußte hinfällig werden im Augenblick der Auffindung positiver, der geometrischen Auffassung widersprechender Befunde.

Der Nachweis der Existenz von mehr als drei isomeren Zimtsäuren stellte den ersten entscheidenden positiven Befund dar, der, mit der geometrischen Auffassung unvereinbar, zur räumlichen Betrachtung zwang, dem dann 1914 der zweite folgte, indem es gelang, den Beweis zu liefern, daß sich inaktive holoedrische Zimtsäure in optisch aktive hemiedrische Zimtsäure überführen läßt[1].

Wenn auch bereits vorher[2]) bei den Versuchen, die Zimtsäure durch Auslesen der Krystalle oder durch Alkaloide zu trennen, gewichtige Anzeichen aufgefunden worden waren, die die Gewinnung hemiedrischer, aktiver Zimtsäure wahrscheinlich machten, so wurde die Erreichbarkeit dieses Zieles erst durch die Untersuchung der aus den aktiven Zimtsäurederivaten regenerierten Zimtsäuren, besonders durch die im Zusammenhang damit aufgefundene induzierte molekulare Asymmetrie bei ungesättigten Verbindungen[3]) in größere Nähe gerückt, bis es dann unter besonderen Bedingungen endlich gelang, hoch

[1]) Diese Zeitschr. **64**, 296, 1914.
[2]) Ebenda **35**, 134, 1911.
[3]) Ebenda **43**, 445, 1912.

drehende Zimtsäurepräparate mit genau stimmenden Analysenwerten zu gewinnen[1]).

Im 16. Abschnitt der ersten Abhandlung[2]) über aktive Zimtsäuren ist auf Grund der Analysen und der bei den aktiven Zimtsäurelösungen abgelesenen Drehungswinkel der einwandfreie Beweis geliefert worden, daß die festgestellte Aktivität tatsächlich eine neue, durch die Schmelze mit den aktiven Weinsäuren erworbene Eigenschaft der Zimtsäure vorstellt.

Bei der großen Wichtigkeit der hier vorliegenden Frage erscheint es jedoch angezeigt, nochmals etwas ausführlicher auf die Beweisführung einzugehen unter Berücksichtigung des bereits veröffentlichten als auch des bei der weiteren Bearbeitung im Laufe des letzten Jahres gesammelten, die früheren Befunde durchaus bestätigenden Beobachtungsmaterials.

Zur Widerlegung des bei solchen Untersuchungen so gerne laut werdenden Einwandes, die beschriebenen aktiven Zimtsäurepräparate könnten Mischungen von inaktiver Zimtsäure und einer andersartigen aktiven Säure sein, soll zuerst ganz allgemein gezeigt werden:

Daß es überhaupt nicht möglich ist, durch Mischung von inaktiver Zimtsäure und irgendeiner der bekannten aktiven Säuren Substanzen herzustellen, die bei einheitlichem Charakter den Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure auch die hohen bei den aktiven Zimtsäuren nachgewiesenen Drehwerte besitzen.

Wie schon früher betont wurde, gibt es keinen direkten, positiven Beweis für die Einheitlichkeit einer organischen Verbindung, am wenigsten liegt, wie irrtümlich zum Teil noch heute geglaubt wird, ein Beweis dafür in einer sogenannten gut stimmenden Analyse, d. i. in einer Analyse, deren Kohlenstoffgehalt 0,2 % hinter dem der Berechnung zurückbleibt.

Mit Hilfe der von mir früher[3]) mitgeteilten Berechnungsmethode läßt sich leicht zeigen, daß man aus Zimtsäure und anderen organischen Säuren von verschiedenem Kohlenstoffgehalt Gemische herstellen kann, die, obwohl sie theoretisch

[1]) Ebenda **64**, 296, 1914.
[2]) Ebenda **64**, 296, 1914.
[3]) Diese Zeitschr. **34**, 373, 1911.

10*

nur 0,2 % Kohlenstoff weniger enthalten als 100 %ige Zimtsäure, 1 und mehr Prozente Fremdsubstanz aufweisen.

Nach der Berechnung kann bei 1 % Beimengung die Fremdsubstanz einen Kohlenstoffgehalt von 52,97 % besitzen, da der 100. Teil dieses Gehalts, von dem 100. Teil des Kohlenstoffgehalts der Zimtsäure abgezogen, 0,7297 — 0,5297 = 0,2 % ausmacht. Bei 2 % Beimengung kann die Fremdsubstanz noch einen Kohlenstoffgehalt von 62,97 % besitzen, bei 3 % 66,31 %, bei 4 % 67,97 % C, bei 5 % 68,97 % C usw.

Je geringer also die Differenz der Kohlenstoffgehalte der zu vermischenden Substanzen ist, um so mehr, und je größer die Differenz, um so weniger kann man der Substanz mit dem höheren Kohlenstoffgehalt von der mit niedrigerem Kohlenstoffgehalt beimischen, ohne dadurch das Resultat der Kohlenstoffbestimmung zu beeinträchtigen.

Die Zusammenstellung von Zimtsäure mit anders zusammengesetzten Säuren zu Gemischen von dem Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure bietet also nach dem Gesagten keinerlei Schwierigkeit, und man kann für jede organische Säure nach ihrer Kohlenstoffzahl berechnen, wieviel man von ihr ohne Störung des Analysenresultats der Zimtsäure zusetzen kann.

Wesentlich eingeschränkt aber wird die Möglichkeit der Herstellung von Mischungen des Kohlenstoffgehalts der Zimtsäure durch die in der Überschrift gestellte Forderung, daß die Mischung einen einheitlichen Charakter besitzen soll. Im allgemeinen nimmt man auf Grund der Erfahrung an, daß Mischungen, die mehr als 1 % Fremdsubstanz enthalten, sich schon äußerlich durch uneinheitliches Verhalten beim Schmelzen und bei der Krystallisation u. a. als solche zu erkennen geben. Danach könnte man höchstens bei 1 %igen Mischungen noch den Charakter einer einheitlichen Substanz anzutreffen erwarten, während bei Zunahme der Menge von Fremdsubstanz immer mehr der Charakter einer Mischung auch rein äußerlich in die Erscheinung treten dürfte.

Die zweite Forderung, daß die Mischung nicht nur den Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure, sondern auch einen einheitlichen Charakter besitzen soll, beschränkt also die Möglichkeit der Herstellung künstlicher Mischungen von Zimtsäure und einer Fremdsubstanz auf 1- oder wenig über 1 %ige Mischungen.

Nicht mehr zu erfüllen aber ist die dritte Forderung, daß das herzustellende einheitliche Gemisch vom Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure infolge der Aktivität der beigemischten Säure in 2 %iger Lösung im 1-dcm-Rohr die hohe Drehung von $\alpha = 0{,}30^0$ zeigt, wie sie bei einigen Präparaten aktiver Zimtsäure beobachtet wurde, und zwar deshalb nicht, weil solche zur Erfüllung dieser Forderung nötigen aktiven Säuren von so außerordentlich hohem Drehungsvermögen gar nicht bekannt sind und daher nicht benutzt werden können.

Bei Annahme eines 1 %igen Gemisches wird die Konzentration der Lösung, die in bezug auf das Gemisch 2 betrug, an wirklich aktivem Stoff $c = 0{,}02$ betragen.

Nach der Formel

$$[\alpha]_D = \frac{100 \cdot 0{,}30^0}{1 \cdot 0{,}02} = 1500^0$$

berechnet sich das Drehungsvermögen einer aktiven Säure, die zur Herstellung einer Mischung, die allen drei Forderungen entspräche, nötig wäre.

Da aber eine organische Säure von solch hohem Drehungsvermögen bisher nicht bekannt ist und wahrscheinlich auch nicht aufgefunden werden dürfte, so ist die Herstellung einer solchen Mischung unmöglich.

Bei Annahme einer 2 %igen Mischung berechnet sich das Drehungsvermögen der zu ihrer Herstellung nötigen Substanz zu $\alpha_D = 750^0$. Die Herstellung einer 3 %igen Mischung setzt die Verwendung einer Säure vom $\alpha_D = 500^0$ voraus.

Da aber 750^0 bzw. 500^0 drehende organische Säuren gleichfalls unbekannt sind, wird die Herstellung dieser höherprozentigen Mischungen unmöglich.

Mischungen von inaktiver Zimtsäure mit einer aktiven Säure, die bei einheitlichem Charakter und dem Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure das häufig bei aktiven Zimtsäuren nachgewiesene, zwischen 10 und 20^0 liegende Drehungsvermögen besitzen, sind danach nicht herstellbar, da die zu ihrer Herstellung nötigen, mehrere hundert bis tausend Grad und darüber drehenden Säuren nicht existieren.

Die mit Hilfe der bekannten aktiven Säuren herstellbaren aktiven Gemische mit inaktiver Zimtsäure bleiben, wie die folgenden Berechnungen lehren, in ihrer Drehung weit hinter

dem bei den aktiven Zimtsäuren nachgewiesenen Drehungsvermögen zurück und können deshalb nie mit diesen verwechselt werden.

Wenn man in der Formel

$$[\alpha]_D = \frac{100 \cdot \alpha}{1 \cdot c} = a$$

wie gewöhnlich für c die Konzentration der aktiven Mischung 2 setzt, so ergibt sich die wirkliche Konzentration an aktiver Substanz $c = 0{,}02$, wenn die Mischung $1\,^0/_0$ der aktiven Substanz enthält.

Nimmt man an, die Mischung bestünde aus $1\,^0/_0$ einer Säure vom $\alpha_D = 100^0$ und $99\,^0/_0$ inaktiver Zimtsäure, so berechnet sich nach der Gleichung

$$\alpha_D = \frac{100 \cdot \alpha}{1 \cdot 0{,}02} = 100^0$$

der Winkel α zu $0{,}02^0$, ein Winkel, der innerhalb der Ablesungsfehler liegt.

Bei Einsetzung dieses Winkels und der Konzentration 2 der Mischung berechnet sich das Drehungsvermögen der Mischung zu

$$\alpha_D = \frac{100 \cdot 0{,}02}{1 \cdot 2} = 1^0.$$

Der Winkel α und das Drehungsvermögen verdoppeln sich bei Zugrundelegung einer $2\,^0/_0$igen Mischung.

Mit mehr als $2\,^0/_0$ Beimischung zu rechnen erübrigt sich, da höherprozentige Mischungen der Forderung, einen einheitlichen Charakter aufzuweisen, meist nicht mehr zu genügen vermögen.

Desgleichen verdoppelt sich Winkel α und $[\alpha]_D$, wenn zur Darstellung der Mischung eine aktive Säure vom $[\alpha]_D = 200^0$ verwendet werden könnte, d. h. bei $1\,^0/_0$iger Mischung müßte $\alpha = 0{,}04^0$ und $[\alpha]_D = 2^0$, bei $2\,^0/_0$iger $\alpha = 0{,}08^0$ und $[\alpha]_D = 4^0$ betragen.

Da die bisher bekannten aktiven Säuren alle ein unter 200^0 liegendes Drehungsvermögen besitzen, so kann man mit Bestimmtheit behaupten, daß man bei Anwendung der bekannten aktiven Säuren zur Herstellung von Mischungen mit inaktiver Zimtsäure ein höheres α_D als 4^0 nicht erreichen kann.

Auf diese Berechnung gestützt, kann man also nur hinter solchen Präparaten vom Kohlenstoffwert der Zimtsäure Mischungen von inaktiver Zimtsäure und einer aktiven Säure vermuten, deren Drehungsvermögen 4° nicht übersteigt; alle höher drehenden Präparate dagegen müssen auch wirklich aktive Zimtsäuremoleküle enthalten.

Beispiel.

Darstellung einer Mischung von inaktiver Zimtsäure und aktiver Mandelsäure von dem Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure und Feststellung ihres Drehungsvermögens.

Der Kohlenstoffgehalt der Mandelsäure beträgt 63,15 %. Für jedes Prozent dieser Säure zu Zimtsäure gemischt, sinkt der Kohlenstoffgehalt um 0,7297 — 0,6315 = 0,0982 %. Man kann danach bequem 2 % Mandelsäure mit Zimtsäure vermischen, ohne das Analysenresultat wesentlich zu stören. Der für diese Mischung berechnete Kohlenstoffgehalt beträgt 72,78 % C, während einheitliche Zimtsäure 72,97 % C verlangt.

Von der in unserem Besitze befindlichen Mandelsäure drehten 0,1130 g in Soda, Volumen 11,3 ccm, also $c = 1$ im 1-dm-Rohr $\alpha = +1,00°$, d. i. $\alpha_D = +100°$.

Von dieser rechts drehenden Mandelsäure wurden 0,02 g mit 0,98 g Zimtsäure vermischt und diese 2 %ige Mischung in 50 ccm Sodalösung zur Lösung gebracht und im 1-dm-Rohr polarisiert.

Diese 2 %ige Mischung drehte genau der obigen Berechnung entsprechend:

$$\alpha = +0,04°, \quad \text{d. i.} \quad [\alpha]_D = 2°.$$

Die Mischung ließ sich durch das Auftreten vom Benzaldehydgeruch beim Sublimieren im Reagensglase leicht als solche charakterisieren.

Bei der gleichfalls hergestellten 1 %igen Zimtsäure-Mandelsäure mischung wurde im 1-dm-Rohr 3 mal der Winkel + 0,02°, 2 mal 0,01° und 1 mal 0,00° abgelesen, das sind Ablesungen, die innerhalb der Beobachtungsfehler fallen.

Der Versuch lehrt also, daß es tatsächlich nicht möglich ist, ausgehend von inaktiver Zimtsäure und einer aktiven Säure von $[\alpha]_D = 100°$ eine Mischung einheitlichen Charakters und dem Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure herzustellen, die auch nur entfernt im Drehungsvermögen den aktiven Zimtsäurepräparaten nahekäme und mit diesen verwechselt werden könnte.

Fundamentaler Unterschied zwischen aktiven Zimtsäurepräparaten einerseits und Mischungen von inaktiver Zimtsäure und einer aktiven Säure mit asymmetrischem Kohlenstoffatom andrerseits.

Wie im Voranstehenden ganz allgemein bewiesen werden konnte, ist es unmöglich, durch Vermischung von einer aktiven Säure mit asymmetrischem Kohlenstoffatom und inaktiver Zimtsäure Präparate von den Eigenschaften der beschriebenen aktiven Zimtsäuren, besonders ihrem hohen, bei der Mehrzahl der Präparate zwischen 10 bis 20° liegenden Drehungsvermögen herzustellen.

Die in der angegebenen Weise mit Hilfe der bisher bekannten aktiven Säuren herstellbaren Mischungen können, wie gezeigt, noch nicht das Drehungsvermögen von 4° erreichen.

Daraus folgt, daß man die beschriebenen aktiven Zimtsäurepräparate niemals als Mischungen von inaktiver Zimtsäure und einer aktiven Säure mit asymmetrischem Kohlenstoffatom ansprechen kann.

Aber selbst wenn es in Zukunft gelänge, aktive Säuren mit asymmetrischem Kohlenstoffatom von dem der obigen Berechnung entsprechendem hohen Drehungsvermögen aufzufinden, so würde es doch nie möglich sein, die künstliche Mischung mit den gleich hoch drehenden Präparaten aktiver Zimtsäure zu verwechseln.

Wie die früheren Untersuchungen bereits gelehrt haben, gibt es ein sehr leicht zu handhabendes Mittel, das gestattet, sofort zu entscheiden, ob eine aktive Mischung von einer aktiven Säure und inaktiver Zimtsäure, oder aber aktive, molekular asymmetrische Zimtsäure vorliegt.

Das Drehungsvermögen aktiver Zimtsäure wird durch verdünnte Sodalösung in der Kälte nicht verändert, verschwindet dagegen in kürzester Zeit vollständig nach Zusatz einiger Tropfen Natronlauge.

Diese Empfindlichkeit der aktiven Zimtsäuren gegen starke Alkalien ist sehr bemerkenswert. Sie macht es auch verständlich, warum aus den in der Natur vorkommenden aktiven Estern der Zimtsäure durch Verseifung stets nur inaktive Zimtsäure gewonnen wird. Besonders wichtig aber ist es, daß sie uns die Möglichkeit an die Hand gibt, aktive Zimtsäure und aktive Mischungen mit Leichtigkeit zu unterscheiden.

Da das Drehungsvermögen der aktiven Säure mit asymmetrischem Kohlenstoffatom bei der Behandlung mit kalter Natronlauge nicht verschwindet, sondern im Gegenteil häufig

infolge des stärkeren Drehungsvermögens des Salzes steigt, so muß eine Mischung von inaktiver Zimtsäure und einer aktiven Säure mit asymmetrischem Kohlenstoffatom vorliegen, wenn bei der Behandlung mit Natronlauge in der Kälte die Aktivität erhalten bleibt oder steigt, wohingegen das vollständige Verschwinden der Aktivität den Beweis für das Vorliegen aktiver Zimtsäure liefert.

Aus den voranstehenden Betrachtungen ergibt sich, daß der so naheliegende Einwand, die aktiven Zimtsäuren könnten ihre Aktivität der Anwesenheit einer aktiven Säure mit asymmetrischem Kohlenstoffatom verdanken, durchaus unzulässig ist und jederzeit durch die Probe mit Natronlauge leicht widerlegt werden kann.

Die früher beschriebenen, mit genau stimmenden Kohlenstoffwerten verbrannten Präparate von aktiver Zimtsäure verdanken, wie im folgenden noch genauer ausgeführt wird, ihre Aktivität dem Vorhandensein molekular asymmetrischer Zimtsäuremoleküle.

Aktive Zimtsäuren.

In dem voranstehenden Abschnitt wurde in allgemeiner Form bewiesen, daß der so naheliegende Einwand, die früher beschriebenen Präparate aktiver Zimtsäuren könnten Gemische vorstellen von inaktiver Zimtsäure mit einer aktiven, asymmetrische Kohlenstoffatome enthaltenden Säure, durchaus unberechtigt ist.

Im Hinblick auf die im letzten Jahre in Gemeinschaft mit G. Hilgendorff gesammelten Erfahrungen sollen jene Präparate nun nochmals eingehender besprochen werden, um unter Berücksichtigung der unseren Methoden anhaftenden Fehlerquellen festzustellen, daß von den beobachteten Drehwerten dieser Präparate nur ein geringer Teil auf Rechnung etwa beigemengter aktiver Säuren anderer Zusammensetzung gesetzt werden könnte, während der größte Teil der Drehwerte durch das Vorhandensein von Zimtsäuremolekülen in ihrer molekular asymmetrischen Konfiguration bewirkt sein muß.

Die früher beschriebenen Präparate aktiver Zimtsäure waren teils bei der Schmelze von Zimtsäure mit Weinsäure neben einem noch nicht eingehend untersuchten, in der nämlichen Richtung

drehenden Cinnamatgemisch, teils aus diesem Cinnamatgemisch nach der vorsichtigen Verseifung durch verdünnte Sodalösung in der Kälte oder durch Erhitzen mit Wasser auf dem Dampfbad und endlich bei der Schmelze von Zimtsäureanhydrid mit Weinsäure neben amorphem, in heißem Ligroin unlöslichem Cinnamat erhalten worden.

Bei allen drei Methoden muß die gebildete aktive Zimtsäure durch Trennung von den nach der nämlichen Richtung drehenden Cinnamaten gewonnen werden, bei der ersten und dritten durch Trennung mit Ligroin, bei der zweiten durch Trennung mit heißem Wasser.

Da alle organischen Verbindungen durch Trennung von irgendwelchen Nebenprodukten gewonnen werden müssen und da es keine der auf Löslichkeitsunterschieden beruhenden Trennungsmethoden gibt, die die völlige Trennung der einen Substanz von der anderen verbürgte, so wäre es eigentlich in jedem besonderen Falle nötig, durch Versuche die Genauigkeitsgrenze der angewandten Trennungsmethode zu ermitteln. Es würde sich dann herausstellen, daß kaum jemals eine absolute Trennung erreichbar ist, daß man vielmehr bei allen Substanzen mit soviel beigemengter Fremdsubstanz zu rechnen hat, als sie durch die Verbrennung nicht mehr nachweisbar ist, das ist in den meisten Fällen mit dem Bruchteil eines Prozents bis zu etwa 1 % und manchmal auch noch mehr.

Voraussetzung für die Durchführbarkeit einer solchen Untersuchung ist, daß man einigermaßen über die Zusammensetzung, Natur und Eigenschaften der Substanzen unterrichtet ist, von denen getrennt werden muß, denn nur dann wird es möglich sein, zu beurteilen, ob und wieviel von der getrennten Substanz nach Analyse und sonstigen Kriterien in der durch Trennung gewonnenen Substanz noch enthalten sein kann.

Die seit mehr als Jahresfrist fortgeführten Untersuchungen über aktive Zimtsäuren haben die früher gemachte Angabe vollauf bestätigt, daß bei den drei genannten Bildungsweisen neben den aktiven Zimtsäuren und den unter Wasseraustritt aus Weinsäure- und Zimtsäuremolekülen entstehenden Cinnamaten, die bei der Zersetzung mit Alkali wieder glatt in ihre Komponenten Weinsäure und Zimtsäure zerfallen, andere Nebenprodukte nicht gebildet werden.

Daraus ergibt sich das für die Beurteilung der Kohlenstoffbestimmungen der aktiven Zimtsäuren so wichtige Resultat, daß die bei ihrer Darstellung entstehenden Reaktionsgemische nur aus aktiver und inaktiver Zimtsäure aus Weinsäure und sämtlichen theoretisch denkbaren, durch Wasseraustritt aus Weinsäure und Zimtsäure ableitbaren Cinnamaten bestehen kann.

Dieses Resultat ist deshalb so wichtig, weil daraus folgt, daß der Kohlenstoffgehalt der einzelnen Teile der Gemische nicht unter 32 % den Kohlenstoffgehalt der Weinsäure sinken und nicht über 72,97 % den Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure steigen kann, eine Schlußfolgerung, deren Richtigkeit sich durch die in der nächsten Abhandlung beschriebenen Trennungen der Reaktionsgemische und durch die Kohlenstoffbestimmungen der einzelnen Fraktionen vollauf bestätigen ließ.

Wenn also bei der Verbrennung einer Fraktion 72,97 % Kohlenstoff gefunden werden, so muß die verbrannte Substanz auch wirklich aus Zimtsäuremolekülen der Formel $C_9H_8O_2$ bestanden haben.

Die Kohlenstoffwerte aller durch Wasseraustritt aus Weinsäure-Zimtsäure ableitbarer Cinnamate und aller denkbaren Gemische von Zimtsäure, Weinsäure und den Cinnamaten liegen zwischen dem Kohlenstoffwert der Weinsäure 32 % und dem der Zimtsäure 72,97 %. Den höchsten Kohlenstoffgehalt nach der Zimtsäure mit 64,39 % besitzt das Dicinnamat der Weinsäure, den niedrigsten das Monocinnamat der Weinsäure mit 55,71 %. Dazwischen liegen die Kohlenstoffwerte aller übrigen denkbaren Kombinationen, von denen neuerdings das Tricinnamat der Diweinsäure nachgewiesen werden konnte, das ich, weil es unter Wasseraustritt aus 1 Mol. Monocinnamat und 1 Mol. Dicinnamat entstanden gedacht werden kann, Monodicinnamat bezeichnen will, mit dem Kohlenstoffgehalt 62,5 % und ferner alle möglichen Gemische dieser Cinnamate.

Im folgenden handelt es sich nun darum, die Grenze der Erkennbarkeit dieser neben den aktiven Zimtsäuren auftretenden Substanzen im Gemisch mit inaktiver Zimtsäure auf analytischem und polarimetrischem Weg durch Rechnung zu ermitteln, um daraus einen Schluß ziehen zu können, ob und wieviel dieser Produkte in den Präparaten aktiver Zimtsäure im äußersten Fall angenommen werden können, ohne sich bei

Anwendung der gebräuchlichen Methoden sofort mit Sicherheit bemerkbar zu machen.

1. Grenze der Erkennbarkeit von Weinsäure in einem Gemisch mit Zimtsäure auf analytischem und polarimetrischem Wege.

Die Beimengung von nur $1\,^0/_0$ Weinsäure zu Zimtsäure setzt den Kohlenstoffgehalt der Mischung um $0{,}7297 - 0{,}32 = 0{,}4097\,^0/_0$ unter den der reinen Zimtsäure herab, d. h. um mehr als das Doppelte von dem als erlaubt betrachteten Fehler von $0{,}2\,^0/_0$. Daher werden alle mehr als $^1/_2\,^0/_0$ Weinsäure enthaltenden Weinsäure-Zimtsäuremischungen bereits bei der Kohlenstoffbestimmung die Anwesenheit der Beimengung verraten.

Viel weniger empfindlich dagegen erweist sich bei weinsäurehaltiger Zimtsäure die polarimetrische Methode zum Zwecke der Feststellung des Vorhandenseins von Weinsäure.

Besonders ausgeführte Versuche lehrten, daß eine $0{,}1\,^0/_0$ige Lösung von Weinsäure in Soda im 2-dcm-Rohr den noch erkennbaren Drehungswinkel:

$$\alpha = 0{,}07^0$$

aufweist, daß hingegen die Drehung verdünnterer Lösungen von Weinsäure im 2-dcm-Rohr nicht mehr mit Sicherheit abgelesen werden kann.

Eine Mischung von inaktiver Zimtsäure und Weinsäure, die im 2-dcm-Rohr und der gewöhnlich angewandten Konzentration von $c = 2$ den gleichen Winkel $\alpha = 0{,}07^0$ zeigen soll, muß nach Berechnung $\frac{0{,}1}{2} \cdot 100 = 5\,^0/_0$ Weinsäure enthalten.

Während sich also bereits die Anwesenheit von mehr als $0{,}5\,^0/_0$ Weinsäure in Zimtsäure bei der Verbrennung bemerkbar macht, kann die Anwesenheit der gleichen Säure in Zimtsäure, erst wenn sie zu $5\,^0/_0$ beigemischt ist, mit Hilfe der Polarisation unter Anwendung der Konzentration $c = 2$ im 2-dcm-Rohr erkannt werden.

In diesem Falle stellt also die Verbrennung gegenüber der Polarisation die viel feinere Erkennungsmethode für beigemengte Weinsäure dar.

2. Grenze der Erkennbarkeit von Monocinnamat in einem Gemisch mit Zimtsäure auf analytischem und polarimetrischem Wege.

Eher noch als Weinsäure könnte in den aktiven Zimtsäurepräparaten die Anwesenheit geringer Mengen des nach der gleichen Richtung drehenden Monocinnamats vermutet werden.

Wie die folgende Betrachtung lehrt, läßt die analytisch zulässige Menge zu inaktiver Zimtsäure beigemischten Monocinnamats die Feststellung irgendwelcher Aktivität nicht zu, so daß von der Aktivität der Zimtsäurepräparate auch nicht ein Bruchteil auf die Anwesenheit des schön krystallisierten Monocinnamats zurückgeführt werden kann.

Das Monocinnamat steht in seinem Kohlenstoffgehalt der Weinsäure am nächsten: Weinsäure 32 %, Monocinnamat 55,71 %, Zimtsäure 72,97 %.

1 % Monocinnamat mit Zimtsäure gemischt setzt also den Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure um:

$$0{,}7297 - 0{,}5571 = 0{,}1726\,\% \text{ herab.}$$

Danach kann man nicht mehr als 1 % dieser Substanz der Zimtsäure zumischen, ohne den Kohlenstoffgehalt der Mischung allzu bemerkbar unter den der Zimtsäure herabzudrücken.

Bei Anwendung der gewöhnlichen Konzentration 2 der Mischung berechnet sich bei Anwesenheit von 1 % Monocinnamat die Konzentration an dieser Substanz zu 0,02.

Setzt man diesen Wert und ebenso das früher für Monocinnamat festgestellte Drehungsvermögen von rund 16° in die Gleichung ein, so erhält man im 1-dcm-Rohr:

$$\alpha_D = \frac{100 \cdot \alpha}{1 \cdot 0{,}02} = 16^0,$$

woraus sich der Winkel α berechnet zu

$$\alpha = 0{,}0032^0,$$

d. i. ein Winkel, dessen Schatten nicht mehr wahrnehmbar ist.

Selbst bei Anwendung eines 100-cm-Rohrs würde der Winkel $\alpha = 0{,}032^0$ innerhalb der Versuchsfehler liegen.

Die Menge Monocinnamat, deren Beimischung zu Zimtsäure analytisch noch zulässig ist, kann also durch die Polarisation nicht mehr erkannt werden.

Es folgt daraus, daß auch in diesem Falle die Kohlenstoffbestimmung zum Nachweis einer geringen Menge von Monocinnamat im Gemisch mit Zimtsäure der Polarisationsmethode überlegen ist.

3. **Der den Kohlenstoffwerten nach zulässige Höchstgehalt an Monocinnamat bzw. Dicinnamat in den früher beschriebenen Präparaten aktiver Zimtsäure und die sich daraus ergebenden Schlüsse.**

Die Verbrennungen, die die in der folgenden Tabelle zusammengestellten Kohlenstoffpräparate ergaben, wurden absichtlich drei verschiedenen Herren zur Ausführung übertragen. Ein großer Teil der genau auf Zimtsäure stimmenden Verbrennungsresultate stammt von Herrn Dr. Engelberg, der von der Zusammensetzung der ihm jeweils zur Verbrennung übergebenen Substanzen nicht unterrichtet war.

Bei der Wägung des Kaliapparates nach der Verbrennung war ich meistens zugegen, schrieb mir die Menge der erhaltenen Kohlensäure nach den auf der Wage befindlichen Gewichten auf und berechnete dann sogleich den Kohlenstoffgehalt [1]).

Im Hinblick auf die genaue Kontrolle bei der Ausführung der Verbrennungen kann es nicht zweifelhaft sein, daß die gefundenen Kohlenstoffzahlen den Kohlenstoffgehalt der verbrannten Präparate richtig zum Ausdruck bringen.

Von allen durch Fraktionierung erhältlichen Substanzen besitzt die Zimtsäure den höchsten Kohlenstoffgehalt, deshalb können die genau auf diese Säure stimmenden Kohlenstoffwerte nicht etwa durch das Vorliegen irgendwelcher Gemische von kohlenstoffärmeren Substanzen mit solchen, die mehr Kohlenstoff als die Zimtsäure enthalten, verursacht sein, sondern die verbrannte Substanz muß auch wirklich aus Zimtsäuremolekülen bestanden haben.

Unter gewöhnlichen Verhältnissen würde kein Mensch bei den in der Tabelle aufgeführten Analysenresultaten von 18 Präparaten aktiver Zimtsäuren verschiedener Herstellung daran denken, daß die geringen Differenzen von gefundenem Kohlenstoffwert und dem für Zimtsäure berechneten, eine andere Ursache haben könnten als die gewöhnlichen Versuchsfehler.

Bei der großen Bedeutung der hier bearbeiteten Frage muß aber auch die Möglichkeit berücksichtigt werden, daß die

---

[1]) Anmerkung. Nur bei der S. 334 mitgeteilten, von Herrn Dr. Landsberger ausgeführten und berechneten Verbrennung läßt sich neuerdings bezüglich des Kohlenstoffwertes ein Fehler feststellen: statt 72,92 % C muß es 72,79 % heißen, während 72,97 % der Theorie entspricht.

bei der Analyse gefundenen Abweichungen teilweise durch die Anwesenheit von Fremdsubstanzen veranlaßt sein könnten.

Es ist deshalb notwendig, den den Analysenzahlen nach in den analysierten Präparaten aktiver Zimtsäuren zulässigen Höchstgehalt an den allein noch in Frage kommenden Nebenprodukten: Dicinnamat und Monodicinnamat zu berechnen und zu zeigen, daß dieser analytisch zulässige Höchstgehalt an den genannten Cinnamaten, selbst wenn man für diese den die bisherigen tatsächlichen Befunde [1]) weit übertreffenden Drehwert von $\alpha_D = 300^0$ zugrunde legt, nur einen Bruchteil der in Wirklichkeit bei der aktiven Zimtsäure abgelesenen Winkel zu erklären imstande ist, während der Hauptteil der Aktivität nach wie vor auf Rechnung aktiver Zimtsäuremoleküle zu setzen ist.

Wenn dieser analytisch denkbare Höchstgehalt an Cinnamaten allein die Aktivität der aktiven Zimtsäuren erklären sollte, so berechneten sich bei den meisten Präparaten so hohe Drehwerte für die hypothetisch angenommenen Cinnamate, wie sie bisher auch noch nicht annähernd bei irgendeiner bekannten aktiven organischen Säure beobachtet wurden und deren Existenzmöglichkeit besonders durch die in der nächsten Abhandlung mitgeteilten fraktionierten Trennungen völlig ausgeschlossen wird.

Tabelle I.

1	2	3	4	5	6	7	8
	Seitenzahl	Gefund. C-Wert	Rohrlänge	Konzentration	Lösungsmittel	Gefund. Winkel α	$[\alpha]_D$
1	313	73,08	2	6,0	Äther	— 0,30°	— 2,4°
2	314	73,06	2	5,0	Äther	— 0,50°	— 5,0°
3	323	73,01	1	2,8	Äther	— 0,13°	— 4,6°
4	330	72,97	1	0,8	Soda	— 0,11°	— 13,8°
5	333	72,97	2	2,5	Soda	— 0,35°	— 7,0°
6	332	72,96	1	3,33	Soda	— 0,18°	— 5,4°

[1]) Anmerkung. Den höchsten Drehwert von allen Cinnamaten zeigt das bereits früher erwähnte, nach einer ganz anderen Methode entstehende, schön krystallisierte Dicinnamat vom Schmelzp. 166°, das das Drehungsvermögen $[\alpha_D] = -275^0$ besitzt. Durch Schmelzen wird das Drehungsvermögen dieser in der nächsten Abhandlung beschriebenen Substanz herabgesetzt.

Da dieser Körper bei einer anderen Reaktion entsteht als die beschriebenen aktiven Zimtsäurepräparate, so kann bei diesen nur mit den viel tiefer drehenden, tatsächlich nebenher aufgefundenen Cinnamaten als Nebenprodukten gerechnet werden.

Tabelle II.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	Seitenzahl	Gefundener C-Wert	Differenz vom C-Wert der Zimtsäure	Berechneter %-Gehalt an		Rohrlänge	Konzentration	Für den denkbaren Gehalt an		Abgelesener Winkel α	Der möglicherweise auf Mono-Dic. / Dic. entfallende Anteil des abgelesenen Winkels α, wenn diese Körper 100° bzw. nicht höher als 300° drehen		Gefund. $[\alpha]_D$	Nach 9 und 10 ber. $[\alpha]_D$ für	
				Mono-Dic.	Dic.			Mono-Dic. berechn.	Dic. Konzentr.		Mono-Dic.	Dic.		Mono-Dic.	Dic.
7	314	72,92	0,05	0,5	0,6	2	5,5	0,0275	0,033	— 0,50°	0,06 bis 0,17°	0,07 bis 0,20°	— 4,54°	909	758
8	332	72,92	0,05	0,5	0,6	2	1,33	0,00665	0,00798	— 0,16°	0,01 „ 0,04°	0,02 „ 0,05°	— 6°	1203	1003
9	333	72,92	0,05	0,5	0,6	2	3,33	0,01665	0,01998	— 0,60°	0,03 „ 0,10°	0,04 „ 0,12°	— 9°	1802	1502
10	336	72,92	0,05	0,5	0,6	2	2,5	0,0125	0,015	+ 0,26°	0,02 „ 0,07°	0,03 „ 0,09°	+ 5,2°	1040	867
11	319	72,90	0,07	0,7	0,9	1	0,6	0,0042	0,0054	— 0,12°	0 „ 0,01°	0,01 „ 0,02°	— 20°	2857	2222
12	314	72,88	0,09	0,9	1,1	1	7	0,063	0,077	— 0,23°	0,06 „ 0,19°	0,08 „ 0,23°	— 3,2°	365	299
13	320	72,88	0,09	0,9	1,1	2	2	0,018	0,022	— 0,61°	0,04 „ 0,11°	0,04 „ 0,13°	— 15,2°	1694	1386
14	332	72,87	0,10	1,0	1,3	2	3,33	0,0333	0,04329	— 0,50°	0,07 „ 0,20°	0,09 „ 0,26°	— 7,3°	751	578
15	319	72,86	0,11	1,1	1,4	2	1,66	0,01826	0,02324	— 0,43°	0,04 „ 0,11°	0,05 „ 0,14°	— 13°	1177	925
16	319	72,83	0,14	1,4	1,8	2	1,66	0,02324	0,02988	— 0,48°	0,05 „ 0,14°	0,06 „ 0,18°	— 14,5°	1033	803
17	320	72,81	0,16	1,6	2,0	2	2,9	0,0464	0,058	— 0,37°	0,08 „ 0,24°	0,12 „ 0,35°	— 6,4°	399	319
18	323	72,81	0,16	1,6	2,0	2	2	0,032	0,04	— 0,50°	0,06 „ 0,19°	0,08 „ 0,24°	— 12°	781	625

Die Kohlenstoffzahlen der in der ersten Tabelle angeführten Präparate weichen so wenig oder gar nicht von dem theoretischen Kohlenstoffwert der Zimtsäure ab, daß bei diesen Präparaten die Annahme, sie könnten noch Cinnamate enthalten, unstatthaft ist.

Die bei diesen Präparaten festgestellte Aktivität muß daher ihrem ganzen Umfang nach durch aktive Zimtsäuremoleküle bewirkt werden.

Bei den Präparaten 7 bis 18 in der zweiten Tabelle betragen die Differenzen des gefundenen und des für Zimtsäure berechneten Kohlenstoffwertes von 72,97 % wie die 4. Spalte zeigt, zwischen 0,05 % bis 0,16 % zu wenig Kohlenstoff. Bei 7 von diesen 12 Präparaten liegt die Differenz noch unter 0,1 %. Bei keiner Verbrennung wurde

also die gewöhnlich für zulässig betrachtete Fehlergrenze von 0,2 %, die nach unserer Erfahrung etwas zu reichlich bemessen ist, erreicht.

Der Kohlenstoffgehalt des Dicinnamats der Weinsäure beträgt 64,39 %, der des Monodicinnamats 62,50 %. Bei Anwesenheit von 1 % Dicinnamat in Zimtsäure berechnen sich für das Gemisch ein um 0,08 %, bei Anwesenheit von 1 % Monodicinnamat in Zimtsäure ein um 0,10 % niedrigerer Kohlenstoffgehalt, als für absolute Zimtsäure.

Mit Hilfe dieser Zahlen sind die in der 5. und 6. Spalte angeführten, auf Grund des jeweils gefundenen Kohlenstoffgehalts noch denkbaren Prozentgehalte an Monodicinnamat bzw. Dicinnamat berechnet worden.

Die Spalten 7 und 8 verzeichnen die bei der Drehungsbestimmung der betreffenden Präparate aktiver Zimtsäure angewandte Rohrlänge und Konzentration.

In den Spalten 9 und 10 sind die Konzentrationen für Monodicinnamat bzw. Dicinnamat angegeben, wie sie sich aus den Analysenresultaten der aktiven Zimtsäurepräparate abgeleiteten Prozentgehalten der Spalten 5 und 6 durch Rechnung finden lassen.

Diese Konzentrationen sind, wie zu sehen, bei allen untersuchten Präparaten sehr gering und rechnen nur nach Hundertstelprozenten. Spalte 11 enthält die bei den Präparaten aufgefundenen Drehungswinkel α.

In den Reihen 12 und 13 ist der berechnete Teil dieses Winkels angeführt, unter der hypothetischen Voraussetzung, daß in den aktiven Zimtsäurepräparaten die analytisch noch zulässigen Mengen von Monodicinnamat bzw. Dicinnamat auch wirklich enthalten wären und für die zwischen 100° und 300° liegendes Drehungsvermögen der Cinnamate berechnet.

Der Vergleich der Orginalwinkel in Spalte 11 mit den für etwa anwesende Cinnamate berechneten Winkeln in den Spalten 12 und 13 läßt erkennen, daß bei allen Präparaten, bis auf zwei, der größte Teil des jeweils abgelesenen Winkels α auf aktive Zimtsäuremoleküle kommt und nur ein dem Verbrennungsresultat entsprechender kleiner Bruchteil durch noch beigemengtes Cinnamat verursacht sein könnte.

Die Berechnung geschieht nach der Gleichung

$$\frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot c} = [\alpha]_D$$

also $$\alpha = \frac{[\alpha]_D \cdot l \cdot c}{100}.$$

Das Produkt $l \cdot c$ berechnet sich mit Hilfe der in Spalte 7 angegebenen Rohrlängen und den in den Spalten 9 bzw. 10 für die Cinnamate berechneten Konzentrationen.

$[\alpha]_D = 100^0$ gesetzt erhält man $\alpha = l \cdot c$.
$[\alpha]_D = 200^0$ „ „ „ $\alpha = 2 \cdot l \cdot c$.
$[\alpha]_D = 300^0$ „ „ „ $\alpha = 3 \cdot l \cdot c$.

Die in Spalte 12 angeführten Zahlen lassen sich daher in allgemeinen Zeichen durch $l \cdot c._{M.D.}$ bis $3 \cdot l \cdot c._{M.D.}$, die in Spalte 13 durch $l \cdot c \cdot_{Di.}$ bis $3 \cdot l \cdot c \cdot_{Di.}$ ausdrücken. Ihre speziellen Zahlenwerte sind abgerundet wiedergegeben.

In Spalte 14 sind die bei den aktiven Zimtsäuren ermittelten Drehungsvermögen zusammengestellt. Die Spalten 15 und 16 enthalten endlich die für Monodicinnamat bzw. Dicinnamat sich berechnenden Drehungsvermögen, unter der hypothetischen Voraussetzung, daß die analytisch zulässigen Cinnamatmengen in den aktiven Zimtsäurepräparaten die Ursache für die Gesamtdrehung dieser Präparate sein sollte.

Die Berechnung geschieht auch hier nach der Gleichung

$$[\alpha]_D = \frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot c} = x.$$

Für α hat man die in Spalte 11 angegebenen Winkel einzusetzen und für $l.\ c.$ die in Spalte 7 gegebenen Rohrlängen und die in den Spalten 9 und 10 errechneten, analytisch zulässigen Konzentrationen für Monodicinnamat bzw. Dicinnamat $c_{M.D.}$ bzw. $c_{Di.}$

Von den so berechneten Drehungsvermögen für die fraglichen Cinnamate liegt nur eins unter 300^0 und eins zwischen 300^0 und 400^0, alle anderen liegen ansteigend von 600^0 bis über 2000^0, und zwar liegt bei 7 von den 12 Präparaten das für etwa beigemengtes Cinnamat berechnete Drehungsvermögen über 1000^0 ansteigend bis 2857^0.

Nach der bisherigen Erfahrung zu schließen, gibt es aber aktive Säuren von so hohem Drehungsvermögen überhaupt nicht.

Bei der eingehenden Untersuchung der Zimtsäure-Cinnamat-

Gemische gab keine Fraktion einen den Kohlenstoffgehalt der Zimtsäure: 72,97 $^0/_0$ übersteigenden Wert und keine Fraktion gab ein an 300° heranreichendes Drehungsvermögen.

Unter voller Berücksichtigung des bei Verbrennung der aktiven Zimtsäure gefundenen Fehlbetrages an Kohlenstoff läßt sich also durch genaue Berechnung feststellen, daß, selbst wenn der Fehlbetrag an Kohlenstoff wirklich durch die Anwesenheit allein in Betracht kommender minimaler Cinnamatmengen und nicht, wie es am wahrscheinlichsten ist, durch die unvermeidlichen Analysenfehler erklärt werden sollte, diese Mengen nur einen Bruchteil der Gesamtaktivität der beschriebenen Präparate aktiver Zimtsäure bewirken könnten, während der größere bzw. größte Teil tatsächlich von den aktiven Zimtsäuremolekülen ausgeht.

Ein Versuch endlich, die ganze Aktivität der aktiven Zimtsäurepräparate auf die Anwesenheit einer minimalen, analytisch nicht mehr bemerkbaren Cinnamatmenge zurückzuführen, scheiterte daran, daß weder die Untersuchung noch die Erfahrung die Existenz so hoch drehender Cinnamate, wie sie zur Rechtfertigung eines solchen Erklärungsversuchs nötig wären, zuläßt.

Der 16. Abschnitt der früheren Abhandlung[1]) über aktive Zimtsäure schließt mit dem folgenden Satz:

„Durch die voranstehenden Berechnungen ist nicht nur der einwandfreie Beweis für die Existenz aktiver Zimtsäuremoleküle geliefert, sondern auch die äußerste Grenze der Genauigkeit unserer üblichen Methoden erkannt und bei den Versuchen erreicht.“

Jetzt, nachdem unter Berücksichtigung der gefundenen Kohlenstoffdifferenzen bei allen früheren Präparaten aktiver Zimtsäure durch Berechnung festgestellt wurde, daß gar nicht daran zu denken ist, die Gesamtaktivität der aktiven Zimtsäure durch die Anwesenheit analytisch noch zulässiger Cinnamatmengen zu erklären, sondern daß die schlimmstenfalles auf Cinnamat zurückführbare Aktivität immer nur einen Bruchteil der Gesamtaktivität ausmacht, bleibt für die Erklärung des

[1]) Diese Zeitschrift **64**, 338, 1914.

Hauptteils der Aktivität das Vorhandensein molekular assymmetrischer, optisch aktiver Zimtsäuremoleküle als einzige Ursache übrig.

Die genaue rechnerische Berücksichtigung der durch die Unvollkommenheiten unserer Trennungsmethoden und Verbrennungen bedingten Fehlerquellen erheischt zwar eine ungewöhnlich größere Arbeit, wie sie sich bisher noch bei keiner chemischen Untersuchung aufgewendet findet, deren Aufwendung sich aber durch die viel größere Sicherheit des gewonnenen Schlußresultats, das in dem einwandfreien Beweis für die Existenzfähigkeit aktiver Zimtsäuremoleküle besteht, reichlich belohnt macht.

Da die Aktivität der Zimtsäuremoleküle nur von einer bisher unberücksichtigt gebliebenen molekularen Asymmetrie herrühren kann, wie sie meine Theorie voraussehen läßt, so war es von allergrößter Bedeutung, daß es auch, wie schon erwähnt, gelang, typisch hemiedrische Zimtsäurekrystalle, von der α-Form abgeleitet, darzustellen, über deren Messung später nach Abschluß der Untersuchung berichtet werden wird.

Verhalten aktiver Zimtsäurepräparate mit nachweisbarem Cinnamatgehalt.

Bisher sind nur diejenigen aktiven Zimtsäurepräparate besprochen worden, nach deren Kohlenstoffbestimmung die Präparate entweder vollständig frei von Cinnamaten gelten mußten oder so wenig davon enthalten konnten, daß nur ein kleiner Bruchteil ihrer Gesamtaktivität auf Rechnung etwa noch unabgetrennter Cinnamate gesetzt werden konnte, während der Hauptteil durch aktive Zimtsäuremoleküle veranlaßt sein mußte.

Neben solchen cinnamatfreien bzw. cinnamatarmen Präparaten aktiver Zimtsäure stößt man aber auch nicht selten auf Präparate, deren Cinnamatgehalt sich zweifelsfrei mit Hilfe der beiden im 6. Abschnitt der früheren Abhandlung beschriebenen Methoden nachweisen läßt.

Die seitherige weitere Erfahrung hat jedoch gelehrt, daß entgegen der früher gehegten Meinung die Kohlenstoffbestimmung zur Erkennung noch anwesender Cinnamate den beiden qualitativen Methoden überlegen ist. Aus der Tabelle ergibt sich, daß der nach den Verbrennungsresultaten denkbare Gehalt an Cinna-

maten bei den meisten Präparaten unter 1 % bleibt und allerhöchstens 2 % betragen kann, d. i. ein Gehalt, der sich nach neueren Feststellungen mit Hilfe der angegebenen qualitativen Methoden nicht mehr mit Sicherheit nachweisen läßt. Da aber mit ihrer Hilfe die Anwesenheit größerer Mengen von Cinnamaten leicht und rasch festgestellt werden kann, so empfiehlt es sich dennoch auf alle Fälle, die Präparate vor Ausführung einer Verbrennung nach diesen Methoden zu prüfen, da die Ausführung einer Verbrennung keinen Zweck hat, wenn das Präparat nach den beiden qualitativen Methoden untersucht, die Anwesenheit von Cinnamaten sicher erkennen läßt.

1. Beispiel.

Das folgende Beispiel lehrt nämlich, daß sich durch die Verbrennung ein Fehlbetrag an Kohlenstoff und durch die Polarisation ein ungewöhnlich hohes Drehungsvermögen feststellen läßt, wenn sich bei einem Präparat durch die früher angegebene qualitative Methode die Anwesenheit von Cinnamaten verrät.

Zur Ermittlung der genaueren Verhältnisse wurde ein solches deutlich cinnamathaltiges Präparat, das durch fraktionierte Extraktion einer Schmelze von Zimtsäureanhydrid und Weinsäure mit heißem Wasser auf dem Wasserbad erhalten worden war, eingehend untersucht.

Die erste Extraktion hatte eine — 7,3° drehende Zimtsäure vom Kohlenstoffgehalt 72,87 % statt 72,97 % ergeben.

Die nach der zweiten Extraktion mit heißem Wasser sich ausscheidende Zimtsäure ließ bei der Sublimationsprobe die Anwesenheit von Cinnamaten deutlich erkennen.

Dementsprechend gab die Verbrennung 1,67 % zu wenig Kohlenstoff:

Ber. f. $C_9H_8O_2$:		Gef.:
C	72,97	71,33.

Dieser Fehlbetrag im Kohlenstoff entspricht einem Gehalt von 16 % Monodicinnamat bzw. 20 % Dicinnamat.

Dem Gehalt an Cinnamat entsprechend erwies sich das Drehungsvermögen dieser zweiten Fraktion beträchtlich höher als das der ersten, nämlich:

$$[\alpha]_D = -34,5^\circ.$$

Durch Umkrystallisieren aus heißem Ligroin ließ sich die lösliche aktive Zimtsäure von dem unlöslichen Cinnamat trennen, das in seiner charakteristischen glasigen Form zurückblieb.

Die nach dem Erkalten abgeschiedene Zimtsäure zeigte bei der Verbrennung den Kohlenstoffgehalt 72,92 % statt 72,97 %. Diese geringe Differenz von 0,05 % Kohlenstoff beweist, daß, wie aus der Tabelle (Präp. 8) zu ersehen ist, die nach der ersten Verbrennung denkbare Menge von 16 % Monodicinnamat bzw. 20 % Dicinnamat durch die Krystallisation aus Ligroin so vollständig entfernt worden ist, daß das Präparat nach der Analyse höchstens noch 0,5 % bzw. 0,6 % dieser Substanzen enthalten könnte, das sind Mengen, die, wie aus der Tabelle zu ersehen ist, nur einen Bruchteil der nach der Krystallisation aus Ligroin noch erhalten gebliebenen Aktivität von $[\alpha]_D = -6^0$ zu erklären vermögen, während mindestens zwei Drittel der Drehung auf aktive Zimtsäure kommt.

Wenn nach der Krystallisation aus Ligroin trotz der dadurch bewirkten Beseitigung von 16 bzw. 20 % Cinnamat von dem ursprünglichen Drehungsvermögen von $-34{,}5^0$ noch 6^0 erhalten bleiben und die neuerliche Verbrennung nur mehr einen Gehalt von höchstens 0,5 bis 0,6 % Cinnamat zuläßt, so muß gerade in diesem Beispiel ein überzeugender Beweis erblickt werden, daß neben den linksdrehenden Cinnamaten tatsächlich optisch aktive Zimtsäure entsteht, die sich in der angegebenen Weise voneinander trennen lassen.

In einem weiteren Beispiel der gleichen Art, das in der früheren Abhandlung, S. 322, angegeben ist, wurde ein durch Sodaverseifung in der Kälte erhaltenes cinnamathaltiges Zimtsäurepräparat, ohne vorherige Analyse durch Krystallisation aus Ligroin von Cinnamat getrennt.

Die auskrystallisierte Zimtsäure besaß trotz der Abtrennung der Cinnamate noch das Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -12^0$, und der Kohlenstoffgehalt war 72,81 % statt 72,97 %.

2. Beispiel.

Auch die Besprechung des folgenden, bereits früher (S. 342) erwähnten Beispiels muß vervollständigt werden.

Um festzustellen, ob und bis zu welcher Menge die an sich im Ligroin unlöslichen Cinnamate bei der Extraktion von Gemischen dieser Körper und aktiver Zimtsäuren durch Ligroin etwa zusammen mit der Zimtsäure in Lösung gebracht werden können, wurden 9,3 g aktiver Zimtsäure verschiedener Drehung, die bei verschiedenen Darstellungen durch Extraktion von Zimtsäureanhydrid-Weinsäureschmelzen mit Ligroin erhalten worden waren, vereinigt.

Die auf dem genannten Wege erhaltenen Zimtsäurepräparate

gaben bei der Verbrennung, wie die auf S. 332ff. angeführten Zahlen 72,96 %, 72,87 %, 72,92 %, 72,92 % beweisen, so genau auf absolute Zimtsäure: 72,97 %, stimmende Werte, daß man im äußersten Fall nur noch mit einem Gehalt von 1 % Cinnamat rechnen könnte.

Auf Grund der Mengen der einzelnen zur Mischung vereinigten Präparate und deren Drehungsvermögen ließ sich für die Mischung selbst das Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -4^0$ berechnen.

Bei erneuter Auflösung dieser 9,3 g aktiver Zimtsäure im Ligroin blieb tatsächlich noch eine sehr geringe Menge von 0,0315 g Cinnamat entsprechend 0,34 % ungelöst, durch Lösung in Soda — Vol. 20 ccm — im 1-dcm-Rohr, $c = 0,1575$

$$\alpha = 0,14^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = -88,9^0$$

drehte.

Eine 0,34 %ige cinnamathaltige Zimtsäure verlangt, für Monodicinnamat berechnet, nur einen um 0,034 % geringeren, für Dicinnamat einen um nur 0,027 % geringeren Kohlenstoffgehalt.

Es handelt sich also bei diesem Präparat um einen so geringen Gehalt der aktiven Zimtsäure an Cinnamaten, wie er niemals mehr durch Verbrennung nachweisbar ist und dessen Effekt auf die Drehung, wie die folgende Rechnung ergibt, innerhalb der Fehlergrenzen liegt und somit nicht in Betracht kommt.

Die Zimtsäure drehte nach der Krystallisation aus Ligroin und der Entfernung der Cinnamate in Soda:

$$c = 2,5, \text{ 2-dcm-Rohr } \alpha = -0,16^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = -3,2^0.$$

Berechnet man unter Zugrundelegung der nämlichen Konzentration und Rohrlänge für das Präparat vor der Krystallisation aus Ligroin vom Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -4^0$ den Winkel α, so erhält man durch Einsetzen der Werte von c und l in die Gleichung:

$$\frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot c} = 4^0$$

$$\frac{100 \cdot \alpha}{2 \cdot 2,5} = 4^0, \text{ d. i. } \alpha = 0,20^0.$$

Durch das Umkrystallisieren des Präparates ist also sein Drehungswinkel α nur von 0,20° auf 0,16° herabgegangen, eine Differenz, die nahe der Beobachtungsgrenze liegt.

Wie die folgende Berechnung ergibt, muß der durch Entfernung von 0,34 % Cinnamat bewirkte Drehungsverlust aber noch geringer sein als 0,04°, weshalb man daran denken muß,

daß auch die aktive Zimtsäure beim Umkrystallisieren einen, wenn auch geringen, Teil ihrer Aktivität einbüßt.

Von der angewandten Konzentration kommen laut Trennung nur 0,34 %, d. i. $c = 0{,}0085$ auf Cinnamat vom $[\alpha]_D = -88{,}9^\circ$. Der auf diese Menge Cinnamat treffende Winkel α ergibt sich:

$$\frac{100 \cdot \alpha}{2 \cdot 0{,}0085} = 88{,}9^\circ, \text{ d. i. } \alpha = 0{,}015^\circ,$$

während der gefundene Drehungsverlust etwa dreimal größer ist.

Die in diesem Präparate noch vorhanden gewesene Cinnamatmenge ist danach so gering, daß sie bei der Verbrennung nur einen Fehlbetrag von 0,02 bis 0,03 % im Kohlenstoff und bei der Drehung vor der Trennung nur einen Mehrbetrag von $\alpha = 0{,}015^\circ$ zur Folge hat, während die Drehung von $[\alpha]_D = -3{,}2^\circ$ nach der Trennung auf aktive Zimtsäure kommt.

Dieser Versuch ergibt also, daß in Präparaten von aktiver Zimtsäure, die bis auf 0,02 bis 0,03 % im Kohlenstoff genau stimmende Werte gaben, noch geringe Spuren Cinnamat enthalten sein können, deren Anteil an der Drehung neben dem durch die aktive Zimtsäure bewirkten völlig verschwindet.

Bei solchen Präparaten ist die Krystallisation aus Ligroin das einzige Mittel, um die Anwesenheit dieser Spuren von Cinnamat nachzuweisen[1]).

Zur Kontrolle wurde von Herrn Dr. Landsberger das von ihm dargestellte und mit dem Kohlenstoffwert 72,92 % statt 72,97 % analysierte Präparat (Tabelle II, Nr. 9) der aktiven Zimtsäure vom Drehungsvermögen $[\alpha]_D = -9^\circ$ wiederholt aus Ligroin umkrystallisiert. Das Drehungsvermögen der auskrystallisierten Zimtsäure war nicht zum Verschwinden zu bringen, sondern nahm bei erneutem Lösen in der Hitze nur ganz allmählich ab. Nach dreimaliger Krystallisation und Trennung von einer geringen Menge Dicinnamat drehte die ausgeschiedene

---

[1]) Durch eine größere Reihe von Versuchen, die in der folgenden experimentellen Abhandlung beschrieben werden, wurde festgestellt, daß bei Extraktionen von Gemischen von inaktiver Zimtsäure und den verschiedenen Cinnamatfraktionen mit Ligroin weniger als 1 % der bis 100° drehenden Fraktionen, weniger als 2 % der unter 500° drehenden Anteile des Cinnamats mit in Lösung gehen und mit der Zimtsäure wieder ausgeschieden werden können. Das sind Mengen, wie sie den bei den aktiven Zimtsäuren der Tabelle in Spalte 5 und 6 angeführten, nach der Analyse zulässigen Prozenten an Cinnamaten entsprechen.

Zimtsäure noch $[\alpha]_D = -7^0$, nach fünfmaligem Umkrystallisieren $[\alpha]_D = -3,8^0$.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, kann die ursprüngliche Säure von $[\alpha]_D = -9^0$ im Höchstfall der Analyse nach 0,6 % Dicinnamat enthalten, eine Menge, die sich auch bei wiederholtem Umkrystallisieren nicht erreichen ließ.

Unter den bisher besprochenen Präparaten aktiver Zimtsäuren lassen sich die folgenden Kategorien unterscheiden:

1. Präparate, bei denen die Verbrennung so genau auf Zimtsäure stimmt, daß nach der Analyse die Anwesenheit von Cinnamaten nicht mehr möglich erscheint. Bei diesen Präparaten muß die Gesamtdrehung auf aktive Zimtsäuremoleküle zurückgeführt werden (Tabelle I).

2. Präparate, bei denen die Differenz von Analysenresultat und Theorie 0,05 bis 0,06 % beträgt. Wie aus der Tabelle II ersichtlich, kann ein Bruchteil der Drehung dem bei der Analyse erhaltenen Kohlenstoffehlbetrag entsprechend auf kleine Mengen Cinnamat, der Hauptteil dagegen muß auf aktive Zimtsäure zurückgeführt werden.

3. Präparate, bei denen die Differenz vom gefundenen und für $C_9H_8O_2$ berechneten Kohlenstoffgehalt mehr als 0,2 % bis über 1 % beträgt. Bei der Krystallisation aus Ligroin bleibt eine dem Analysenresultat entsprechende Menge von ca. 2 bis 10 % und mehr Cinnamat ungelöst zurück. Die nach der Trennung ausgeschiedene Zimtsäure ist noch stark aktiv und gibt nunmehr bis auf 0,05 % im Kohlenstoffgehalt stimmende Analysenwerte.

4. Präparate, bei deren Krystallisation aus Ligroin so geringe Mengen von Cinnamat ungelöst zurückbleiben, daß sie keinen meßbaren Einfluß mehr auf das Drehungsvermögen des Präparats ausüben und sich bei der Verbrennung erst in der zweiten Dezimalstelle bemerkbar machen. Bei solchen Präparaten kommt der ganze gefundene Drehungswinkel mit Ausnahme von 0,01 bis 0,02 auf aktive Zimtsäure.

Über den höchsten erreichbaren Drehwert aktiver Zimtsäure läßt sich heute noch nichts mit Bestimmtheit äußern.

Da die in den Tabellen zusammengestellten Präparate aktiver Zimtsäure von genau stimmenden Analysenwerten zwischen $[\alpha]_D = -2{,}4^0$ und $[\alpha]_D = -20^0$ liegende Drehungen ergeben haben, so müssen sie naturgemäß noch Gemische von aktiver und inaktiver Zimtsäure vorstellen, deren weitere Trennung durch die geringe Löslichkeitsverschiedenheit von aktiver und inaktiver Zimtsäure zusammen mit der relativ leichten Racemisierbarkeit auch in Zukunft großen Schwierigkeiten begegnen dürfte, so daß man noch keinen Anhaltspunkt dafür hat, wie das höchste bei der Zimtsäure erreichbare Drehungsvermögen sein wird.

Bei dieser Gelegenheit ist daran zu erinnern, daß nur die Drehungsvermögen für diese Frage von Bedeutung sind, die bei Präparaten, die vorher mit genau auf $C_9H_8O_2$ stimmendem Kohlenstoffwert analysiert wurden, zur Ablesung kamen, und zwar deshalb, weil das Ergebnis der Verbrennung die wichtigste Unterscheidungsmöglichkeit an die Hand gibt zwischen aktiven Zimtsäurepräparaten und anderen, gleich stark drehenden Präparaten, bei denen umgekehrt wie bei den aktiven Zimtsäuren der größte Teil der Aktivität auf die Anwesenheit von Cinnamaten und nur ein sehr geringer Teil auf aktive Zimtsäuremoleküle zurückführbar ist.

Die letzteren Präparate lassen sich durch den Fehlbetrag im Kohlenstoff und im Anschluß an diese Feststellung durch die Trennung in Cinnamat und schwach aktive Zimtsäure mit Hilfe von Ligroin leicht von aktiver Zimtsäure unterscheiden.

Die Gleichheit im Drehungsvermögen bei zwei Präparaten rechtfertigt also keinesfalls den Schluß auf deren Identität.

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß es gelingt, die bei den verschiedenen Methoden entstehende aktive Zimtsäure so weit von nebenher gebildeten Cinnamaten zu trennen, daß die etwa noch nicht abgetrennten Spuren der letzteren weder auf das Drehungsvermögen der aktiven Zimtsäure, noch auf deren Analyse irgendeinen mit unseren Hilfsmitteln noch nachweisbaren Einfluß ausüben, womit die äußerste Trennungsgrenze praktisch erreicht ist.

Einen Beweis für die absolute Trennung aktiver Zimtsäure von den Cinnamaten zu erbringen, wird immer unmöglich sein, da eben auch die zu Gebote stehenden analytischen Erkennungs-

methoden der abzutrennenden Substanzen eine nicht mehr überschreitbare äußerste Grenze besitzen.

Mit diesen eingehenden, kritischen Besprechungen der früher beschriebenen aktiven Zimtsäuren ist nunmehr ein für allemal der unwiderlegbare Beweis erbracht, daß die Zimtsäure in molokular asymmetrischen, optisch aktiven Formen zu existieren imstande ist, die unter gewissen Bedingungen, z. B. beim Versetzen mit einigen Tropfen Natronlauge in der Kälte, beim Erhitzen mit Wasser, bei der Sublimation und bei der Bromaddition leicht wieder in die ursprüngliche inaktive Racemform zurückverwandelt werden.

Damit fällt natürlich auch für immer der bisherige Begriff der doppelten Bindung und die Theorie der geometrischen Isomerie[1]).

Wie in dem theoretischen Teil meiner früheren Abhandlung gezeigt, stellen die ungesättigten Verbindungen eine bestimmte Kategorie von Substanzen vor, die, ohne ein asymmetrisches Kohlenstoffatom zu enthalten, der molekularen Asymmetrie und damit der optischen Aktivität fähig sind, die allerdings in den meisten Fällen durch Racemisierung äußerst leicht verschwinden dürfte, so daß ihr Nachweis nur in besonders günstigen Fällen, wie bei der Zimtsäure, zu erwarten steht.

Neuerdings hat Pauly[2]) darauf hingewiesen, daß die geniale Elektronentheorie von J. Stark genau zu den gleichen Folgerungen in bezug auf die ungesättigten Verbindungen führt wie meine Lückentheorie. Die Anwendung der Elektronentheorie auf die ungesättigten Verbindungen hat den großen Vorteil, durch die Elektronen eine einleuchtende Erklärung für das Bestehenbleiben der Lücken zu geben.

Während der ersten Untersuchungen über die aktiven Zimt-

---

[1]) Um dies auch in den gewöhnlichen Schreibformeln ungesättigter Verbindungen in Erscheinung treten zu lassen, braucht man an Stelle der bisherigen Schreibweise z. B. des Aethylens $CH_2 = CH_2$ nur zu schreiben $CH_2 \rightleftharpoons CH_2$, der eine Strich bedeutet dann die wirklich bestehende Bindung, das Zeichen $\rightharpoonup$ gibt die Stellen an, an denen die Lücken zu denken sind.

[2]) Diese Zeitschr. 67, 439, 1914.

säuren habe ich meinen Mitarbeitern gegenüber öfter betont, daß bei den beobachteten Aktivierungen der Zimtsäure wohl die Elektronen mit im Spiel seien.

Die mitgeteilten kritischen Betrachtungen sind deshalb von besonderem Werte, weil sie, obwohl erst nach mehr als 1 Jahre unter Berücksichtigung der seitdem gemachten Beobachtungen angestellt, die frühere Schlußfolgerung, daß die Zimtsäure in optisch aktiven Molekülen existieren kann, nicht nur nicht zu widerlegen vermochten, sondern sie im Gegenteil vollauf bestätigen mußten.

Über einen neuen Kühler.

Von

Sigmund Fränkel.

(Aus dem Laboratorium der „Ludwig Spiegler"-Stiftung in Wien.
[Vorstand: Prof. Dr. Sigmund Fränkel.])

(Eingegangen am 22. Januar 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

In der Laboratoriumspraxis werden für Destillationen vielfach die alten Liebigschen Kühler und außer ihnen, um größere Kühloberflächen zu erhalten, Kugelkühler und Kühler mit ovalen Erweiterungen benützt. In neuerer Zeit verwendet man noch Kühler mit eingebauten Schlangen, um auch auf diese Weise die Kühlfläche zu erhöhen, ohne die Länge des Kühlers über ein bestimmtes Maß hinaus zu vergrößern.

Ich habe einen Kühler konstruiert, der dem Liebigschen Kühler gegenüber, bei der gleichen Länge, mehr als die dreieinhalbfache Kühlfläche zeigt. Der Kühler ist den Röhrenkühlern, wie sie häufig in der Technik benützt werden, mit bestimmten Modifikationen nachgebildet. Er beruht auf dem Prinzipe größtmöglichster Kühlflächen bei kleinstem Wasserverbrauch und gerader Kühlerseelen. Die Konstruktion ist aus umstehender Zeichnung (Fig. 1) klar ersichtlich; statt eines Kühlrohres sind 7 schmale Kühlrohre eingebaut; damit aber das Kühlwasser nicht nur zwischen Mantel und den äußern Teilen der Kühlerseelen läuft, wird es zwangläufig durch eine Düse in die Mitte des Kühlers zwischen die Kühlerseelen geführt.

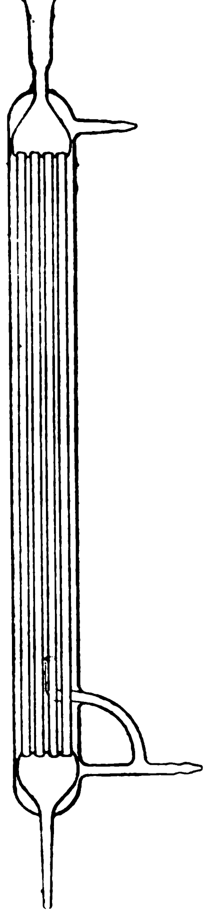


Fig. 1.

Die von mir zuerst konstruierten Kühler, die diese Vorrichtung noch nicht hatten, zeigten den ebengenannten Fehler. Die Glasbläser-Firma Paul Haack in Wien IX hat unseren Kühler geblasen, er kann aber von jedem Glasbläser gemacht werden, wenn man ihm folgende Maße angibt:

Der äußere Kühlmantel soll, wenn man eine innere Kühlfläche von einem halben Meter Länge haben will, 590 mm lang sein und einen Durchmesser von 50 mm haben. Will man einen längeren Kühler, so sind die Längenmaße entsprechend zu erhöhen.

Die eingebauten 7 Kühlrohre sind 50 mm lang und haben 6 mm lichte Weite.

Ein solcher Kühler hat dann eine Kühlfläche von 6,75 qdm, während ein Liebigscher Kühler von gleicher Länge und 12 mm lichter Weite des Kühlrohres nur 1,885 qdm Kühlfläche hat.

Daraus ergibt sich, daß der neue Kühler bei gleicher Länge und bei gleichem Wasserverbrauch die mehr als dreieinhalbfache Kühlfläche hat.

Über das Vorkommen von cyklischen Aminosäuren im Secale cornutum.

Von

Sigmund Fränkel und Josef Rainer.

(Aus dem Laboratorium der „Ludwig Spiegler-Stiftung" in Wien.
[Vorstand: Prof. Dr. Sigmund Fränkel.])

(Eingegangen am 22. Januar 1916.)

Unter den Bestandteilen des Secale, die rein dargestellt sind, wurden außer dem Ergotoxin, dem wirksamen Alkaloid, noch Cholin, Leucin und Asparaginsäure neben andern, auch sonst in vielen Pflanzen vorkommenden, weniger interessanten Verbindungen gefunden.

Erst durch die Arbeiten englischer Forscher wurde in den letzten Jahren gezeigt, daß die Wirksamkeit der Ergotinextrakte nicht allein abhängig ist vom Gehalt an Ergotoxin, sondern sich an ihr noch eine Reihe von Basen beteiligt, die Abkömmlinge der Aminosäuren des Eiweißes sind und aus den Aminosäuren durch Abspaltung der Carboxylgruppe entstehen. So haben Barger und Dale β-Imidazolyläthylamin, das vom Histidin abstammt, im Ergotinextrakt gefunden und seine Wirksamkeit auf den Uterus festgestellt[1]). Ebenso haben dieselben Forscher p-Hydroxyphenyläthylamin als Bestandteil des Ergotins nachweisen können, eine Substanz, die sich vom Tyrosin ableitet. Durch ihre Untersuchungen hat sich überhaupt gezeigt, daß im Ergotinextrakt eine Reihe von Basen vorhanden sind, die sich sämtlich von den Aminosäuren des Eiweißes durch Decarboxylierung ableiten und die je nach ihrem Baue mehr oder minder an der physiologischen Wirkung des Ergotins beteiligt sind. Die aliphatischen Basen sind sehr wenig

[1]) G. Barger und H. H. Dale, Journ. of physiol. 41, 19, 1910.

wirksam, während die vier Basen, die sich von den vier cyklischen Aminosäuren ableiten, sämtlich stark wirksam sind, wenn auch das Imidazolderivat das stärkst wirksame unter ihnen ist. Diese vier Aminosäuren sind Phenylalanin, Tyrosin, Histidin und Tryptophan. In welcher Weise diese Substanzen aber entstehen, kann nur nach den Analogien mit den künstlichen Versuchen, durch Fäulnisbakterien Aminosäuren zu decarboxylieren, vermutet werden.

Wir haben nun durch einen zufälligen Befund die cyklischen Aminosäuren, deren Vorkommen im Ergotinextrakt nicht bekannt war, nachweisen können. Als wir Ergotinextrakte mit Bleizucker reinigten, krystallisierte aus dem entbleiten Filtrate in feinsten weißen Krystallen eine Substanz, die sich als Tyrosin erwies.

Sie war in kaltem Wasser äußerst schwer löslich und gab nach dem Umkrystallisieren aus siedendem Wasser die charakteristischen Reaktionen des Tyrosins, wie die Millonsche, Mörnersche, Piriasche und Paulysche Reaktion.

Das Filtrat vom Tyrosin wurde mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit einer Lösung von schwefelsaurem Quecksilberoxyd in Schwefelsäure gefällt. Der Niederschlag wurde abfiltriert, mit verdünnter Schwefelsäure gewaschen, mit kohlensaurem Barium aufgeschlemmt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Das Filtrat wurde im Vakuum eingeengt und damit die Tryptophanreaktionen mit Glyoxylsäure und Schwefelsäure und mit Brom versucht.

Wir haben bei einem Secalepräparat sowohl die charakteristische Bromreaktion, als auch die Glyoxylreaktion erhalten. Bei einem anderen Präparat konnten wir bei dem gleichen Verfahren auch nicht die Spur einer dieser sehr empfindlichen Reaktionen feststellen. Es ist also ersichtlich, daß Tryptophan kein konstanter Bestandteil des Ergotins ist, d. h. daß der Abbau des Tryptophans zum Indolyläthylamin anscheinend rascher und leichter vor sich geht, als die Decarboxylierung von Tyrosin und Histidin.

Die vom sauren Quecksilberniederschlage abfiltrierte Flüssigkeit, aus der Tryptophan ausgefällt war, wurde mit Lauge und Soda alkalisch gemacht und noch mit Sublimat versetzt. Die sehr gut mit Wasser ausgewaschene Quecksilberfällung wurde

mit Schwefelwasserstoff zerlegt, vom Schwefelquecksilber abfiltriert und das Filtrat stark konzentriert. Wir erhielten eine kleine Menge von Krystallen eines Chlorhydrates, deren Identität mit Histidinchlorhydrat durch die Krystallform, die Löslichkeiten und die Diazobenzolsulfosäurereaktion erwiesen wurde.

Es ist durch diese Befunde der Nachweis erbracht, daß im Secale die cyklischen Aminosäuren, die Vorstufen der wirksamen cyklischen Aminobasen, vorkommen, aus denen letztere direkt durch Decarboxylierung entstehen können. Die Bildungsweise der Aminobasen ist also dermaßen erklärt, daß vorerst eine fermentative Hydrolyse des Secaleeiweißes zu Aminosäuren erfolgt, der eine mehr oder minder vollständige Decarboxylierung derselben nachfolgt.

Durch eine Untersuchung, die Dr. Alexander Friedmann in unserem Institute durchgeführt hat und die gegenwärtig fortgesetzt wird, konnte die fermentative, nicht bakterielle, Spaltung der Aminosäuren vorläufig erst für Glykokoll festgestellt werden.

Wir werden in nächster Zeit ausführlich darüber berichten.

Über einen Laboratoriums-Vakuum-Trockenschrank.

Von

Sigmund Fränkel.

(Aus dem chemischen Laboratorium der k. k. österreichischen Gesellschaft für Erforschung und Bekämpfung der Krebskrankheit in Wien. (Vorstand: Prof. Dr. Sigmund Fränkel.))

(Eingegangen am 22. Januar 1916.)

Mit 3 Figuren im Text.

Zur Trocknung von Geweben im Laboratorium werden meist nicht die in der Großtechnik mit so großem Erfolge benützten Methoden der Trocknung bei niederen Temperaturen im Vakuum verwendet. Man hilft sich vielfach durch die in unserem Laboratorium ausgearbeiteten Methoden der Trocknung mit Salzen, und zwar mit Glaubersalz und mit Natriumphosphat [1]). Man hat auch vielfach, da die Institute nicht über große Vakuumschränke verfügten, das Trocknen in warmer Luft in Laboratorien benützt. Ich verweise auf die Arbeiten von V. Rubow [2]) und A. Erlandsen [3]). In vielen Laboratorien hat der Apparat von Edwin A. Faust Eingang gefunden, der mit erwärmter Luft arbeitet [4]). Einen ähnlichen Apparat haben S. P. Beebe und B. H. Buxton [5]) konstruiert. Auch dieser Apparat arbeitet mit vorgewärmter Luft, die über die zu trocknende Substanz getrieben wird. Apparate dieser Art transportieren natürlich mit der Luft, die in großen Mengen über das

---

[1]) S. Fränkel und A. Elfer, diese Zeitschr. **28**, 330, 1910; **40**, 138, 1912. (Siehe auch S. Fränkel in Emil Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, **5**, Teil II, S. 613 ff.)

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **52**, 173, 1905.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **51**, 71, 1907.

[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **51**, 248, 1904.

[5]) Amer. Journ. of physiol. **14**, 7, 1905.

zu trocknende Gut streicht, sehr viel Staub und Laboratoriumsdämpfe. Das gleiche gilt von dem Heißluftapparat, den jüngst T. B. Aldrich beschrieben[1]). Diese Methode ist daher nicht anwendbar bei Substanzen oder Geweben, die gegen Luftsauerstoff empfindlich sind.

Kleine Vakuum-Trockenschränke findet man in den verschiedenen Katalogen der Fabriken für Laboratoriumsbedarf beschrieben; sie vereinigen aber selten die Vorzüge der großen Apparaturen in der Technik mit den für das Laboratorium notwendigen Dimensionen.

Ich habe nach den in der Großtechnik bekannten Prinzipien einen für den Laboratoriumsbedarf ausreichend großen, wechselweise mit Dampf und heißem Wasser heizbaren Trockenschrank für Vakuum bauen lassen, der sich nach mehrjährigen Erfahrungen so bewährt hat, daß ich ihn den Fachgenossen empfehlen kann. Er nimmt wenig Raum ein, läßt sich in einem Winkel an Wandkonsolen sehr gut befestigen, kostet in Friedenszeiten M. 750.— mit allem Zubehör inkl. Montage. Der Dampfkessel des Apparates läßt sich auch ohne weiteres mit einem Überhitzer verbinden, den wir auf einem Arbeitstisch aufgestellt haben, so daß er auch für Destillation mit überhitztem Wasserdampf verwendbar ist. Wie die Abbildungen zeigen, besteht der Apparat aus drei Teilen: aus dem mit Gas heizbaren Dampf- und Wasserkessel, zweitens aus dem Vakuum-Trockenapparat und drittens aus dem Kondensator. In unserem Institute ist der ganze Apparat an eine elektrisch betriebene Vakuumpumpe, die das ganze Institut versorgt, angeschlossen; besitzt man keine solche, so genügt auch eine größere, etwa Körtingsche Wasserstrahlpumpe. Man füllt zunächst den Dampfkessel mit Wasser, indem man langsam und nur wenig das Ventil 1 öffnet, das den Kessel mit der Wasserleitung verbindet. Soll der Kessel als Dampfkessel arbeiten, so genügt die Füllung bis zur Marke *a* des Wasserstandanzeigers; soll der Kessel warmes Wasser liefern, so wird er ganz gefüllt, und eventuell rinnt überschüssiges Wasser durch das Ventil 2 in das Wasserablaufrohr, das mit der Ablaufleitung verbunden ist. Sobald der Druck im Kessel 1 Atm. erreicht hat, was auf dem

[1]) Journ. of Biol. chem. **23**, 255, 1915.

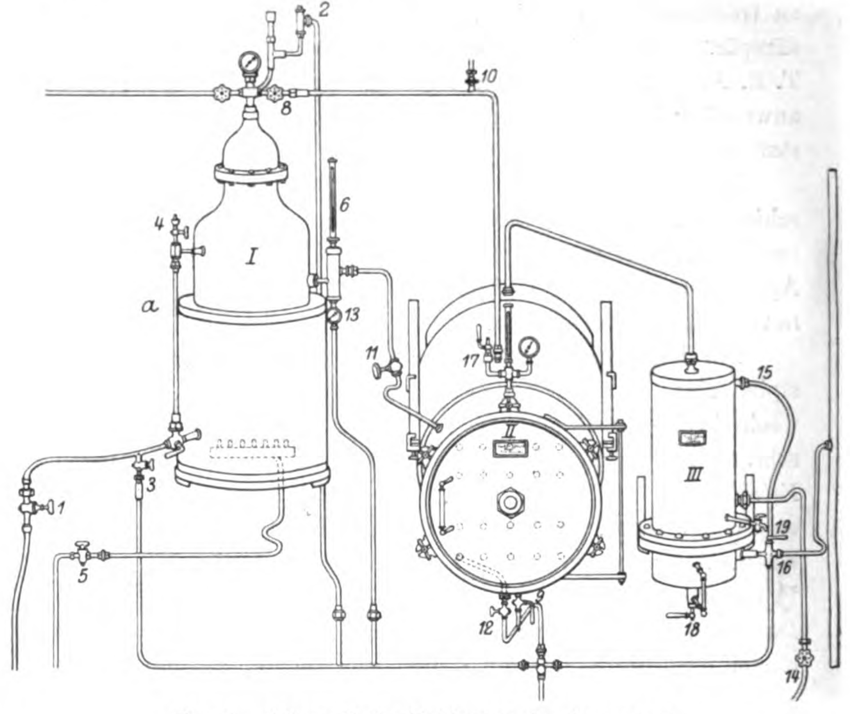


Fig. 1. Schematische Zeichnung des Apparates.

Manometer abgelesen werden kann, so ist das Wasserventil 1 zu schließen. Die Entleerung des Kessels erfolgt durch Öffnen des Hahnes 3 und des Lufthahnes 4.

Die Temperatur des warmen Wassers zeigt das Thermometer 6 an. Durch Öffnen des Ventils 8 kann das warme Wasser in den äußeren Heizmantel des Vakuumapparates geleitet werden, aus dem es durch Öffnen des Hahnes 9, sowie des Lufthahnes 10 wieder abgelassen werden kann. Durch Öffnen des Ventiles 11 und 12 wird das warme Wasser durch das im Vakuumapparat eingebaute Rohrsystem, auf dem die Trockenplatten liegen, durchgeführt. Durch Öffnen des Ventiles 13 fließt eventuell überschüssiges warmes Wasser in die Ablaufleitung ab. Durch das Ventil 14 tritt das Kühlwasser in den Kondensator ein, das durch das Rohr 15 in die Ablaufleitung abfließt.

Der Hahn 16 stellt die Verbindung des Innenraumes mit der Vakuumleitung her. Durch Hahn 17 strömt die Luft in

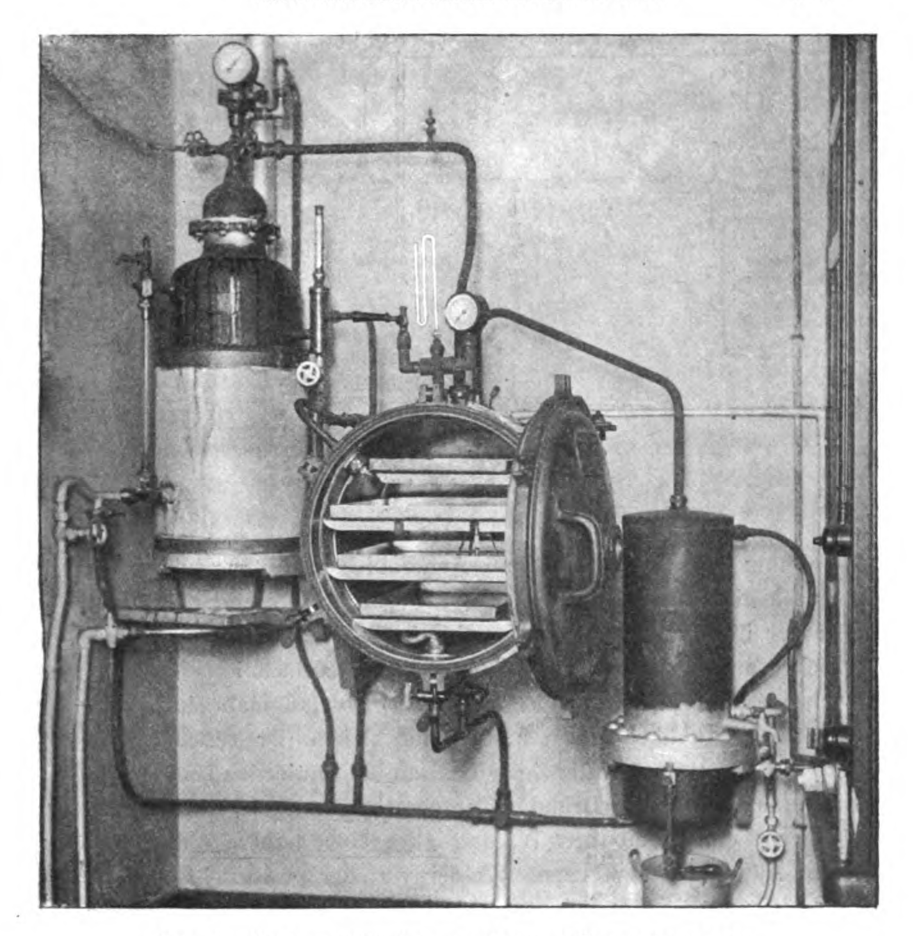


Fig. 2. Photographie des montierten, offenen Apparates.

den Vakuumapparat ein, er muß geöffnet werden, wenn man durch Öffnen des Hahnes 18 das Kondensprodukt, z. B. Wasser, ablassen will. Der Hahn 19 dient zum Ablassen des Kühlwassers aus dem Kondensator.

Auf die eingebauten Heizschlangen des Apparates werden vier Tassen aus Kupfer, die stark versilbert sind, aufgelegt und beschickt. Der Apparat faßt zwei kleinere Tassen, 535 mm lang, 230 mm breit mit einem überhöhten Rand von 20 mm und zwei größere Platten 535 mm lang, 333 mm breit und 20 mm hoch. Es empfiehlt sich, den Apparat vorerst mit Dampf anzuwärmen, nachdem man ihn evakuiert hat. Das

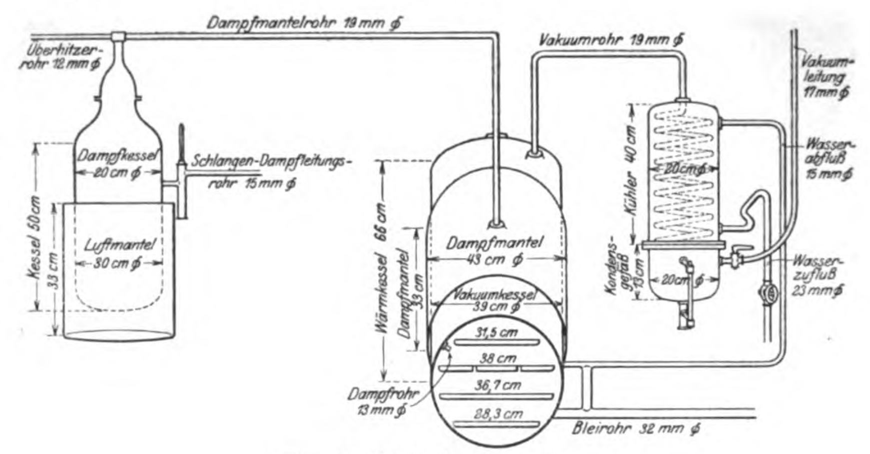


Fig. 3. **Maße des Apparates.**

Vakuum liest man zuerst am Anaeroid-Manometer, später am Quecksilber-Manometer ab. In der vorderen Wand (Tür) und in der hinteren Wand sind zwei mit Glas verschlossene Schaulöcher angebracht. Hinter das zweite Schauloch ist eine elektrische Lampe mit Spiegel geschaltet, so daß man eine Heizplatte genau überblicken kann. Auf kleinen Dreifüßchen sind kleine Thermometer montiert, die man kontinuierlich beobachten kann und die die Brühden-Temperatur anzeigen. Sobald die Gewebe einen Teil ihres Wassers abgegeben haben, speist man den Apparat mit warmem Wasser von der gewünschten Temperatur; man kann bei gutem Arbeiten selbst sehr empfindliche Fermente, ohne jede Einbuße an Wirksamkeit, zur Trockne bringen. Die Handhabung des Apparates ist sehr einfach und erfordert kein geschultes Personal. Mit geringer Übung läßt sich der Apparat ohne weiteres bedienen. Die Verschlußschrauben sind so eingerichtet, daß man beim Öffnen des Apparates einen Druck ausüben kann, um die mit Gummi gedichtete Tür, selbst wenn der Gummi angeklebt ist, leicht aufzumachen. Wir haben verschiedene Gewebe, Fermentlösungen und insbesonders Serum in großen Mengen auf diesem Apparat vertrocknet. Das Abheben des Gutes von den Tassen ist sehr leicht, da der Silberüberzug die Aufnahme von Metallen, insbesonders von Kupfer, verhindert, das bei den weiteren Operationen sich sonst als sehr störend erweisen würde. Unser

Apparat ist von der Firma Hermann Steinbuch, vorm. F. A. Wolff & Söhne in Wien V, ganz aus Kupfer gebaut worden. Jede kleine Fabrik kann ihn aber nach den Angaben und Zeichnungen in gleichen oder größeren Dimensionen leicht ausführen und ohne starke Belastung des Bodens und ohne Inanspruchnahme von viel Raum montieren.

Die Leistungsfähigkeit des Apparates kann man aus folgenden Zahlen entnehmen:

Der Apparat vertrocknet 15 bis 16 Stück Placenten im Durchschnittsgewicht von 8 kg in 8 Stunden bei 35° und 10 mm so weit, daß das Trockengut auf einer Seckmühle raschestens zu staubfeinem Pulver vermahlen werden kann. Serum kann in 6 Stunden getrocknet werden. Fettreiche Gewebe brauchen natürlich eine etwas längere Zeit. Bei Flüssigkeiten ist es zweckmäßig, vorerst diese einer Vakuumdestillation zu unterwerfen und erst den dünnen Sirup im Vakuum-Trockenschrank zur Trockne zu bringen.

Über die Konservierung von Eiern[1].

Von

Georg Eichelbaum.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 27. Januar 1916.)

Den Anlaß für die nachstehend beschriebenen Versuche gab die augenblickliche Knappheit an Eiern. Wir wären nun in der Lage, aus gewissen Gebieten große Mengen Eier zu beziehen, wenn nicht die Verfrachtung des zerbrechlichen und empfindlichen Materials jetzt kaum möglich erschiene. Es wurde nun die Möglichkeit in Erwägung gezogen, die Eier zu zerschlagen, zu mischen und mit einem geeigneten Konservierungsmittel versetzt in Fässern zum Transport zu bringen, um sie hier dem Verbrauch zuzuführen oder zu Trockenei zu verarbeiten. Von diesem Gesichtspunkte aus wurden die nachstehenden Versuche angestellt.

Unter heutigen Verhältnissen muß man mit einem monatelangen Transport rechnen. Die Konservierung mußte also durchgreifend sein, während sich giftige und stark riechende Mittel von selbst verboten. In der Tat zeigte ein rasch angestellter Versuch, daß selbst so leicht flüchtige Reagentien wie Toluol und Chloroform von damit behandelten und dann getrockneten Eiern hartnäckig festgehalten wurden und sich auch durch Trocknung nicht verdrängen ließen. So konserviertes Ei ist für Genußzwecke unbrauchbar geworden und nur noch für technischen Bedarf anwendbar.

Es wurden nacheinander folgende Konservierungsmittel in

[1]) Diese Arbeit wurde auf Veranlassung der Zentral-Einkaufsgesellschaft m. b. H. ausgeführt.

Anwendung gebracht: Toluol, Chloroform, Salzsäure, Essigsäure, Senföl, benzoesaures Natrium, Borsäure, Salicylsäure. Da die Versuche beschleunigt werden sollten, so wurden die natürlichen Verhältnisse des langen Transportes dadurch nachgeahmt bzw. hergestellt, daß die Versuche im Brutschrank bei 37 bis 38°, einer Temperatur, bei der Eiweiß sehr bald der Zersetzung anheimfällt, vorgenommen wurden. Des ferneren wurde die Vorsicht gebraucht, anscheinend gelungene Versuche nochmals mit etwas infiziertem Material zu wiederholen, da doch die Wahrscheinlichkeit vorliegt, daß das Material beim Aufschlagen, Durchmischen, Verpacken von außen her durch Keime verunreinigt wird, die dann unter den für sie günstigen Bedingungen des Transportes sehr geeigneten Nährboden finden.

Bemerkt muß noch folgendes werden: die mir zur Verfügung gestellten Eier waren durchaus nicht das, was man tadellos frische Eier nennt, sondern nach Durchleuchtung, Geruch und Geschmack sogenannte Konsumeier, die sich weniger für den Genuß in der Schale als zu Rühr- oder Setzeiern oder zu Kochzwecken eignen.

1. Konservierung mit Toluol.

Toluol in größerer Menge ist ein vorzügliches Mittel, um Fäulnis auszuschalten, während es die Kraft der Fermente nicht beeinträchtigt.

Versuch: 4 Ganzeier, Gewicht 200 g, wurden bis zur gießbaren Konsistenz geschlagen, mit 1 g = $\frac{1}{2}$% Toluol gut gemischt und nach zweitägigem Verweilen im Brutschrank bei ca. 45 bis 50° getrocknet. Trockenzeit 48 Stunden. Die Erwartung, daß die Flüchtigkeit des Toluols seine Entfernung ermöglichen würde, erfüllte sich nicht. Geschmack und Geruch des Toluols war bei dem trockenen Präparat deutlich erkennbar, und auch ein Wiederaufweichen und Backen auf der Pfanne erwies die Ungenießbarkeit. Weitere Versuche mit längerem Verweilen im Brutschrank zur Prüfung der Haltbarkeit wurden als unnütz nicht gemacht.

2. Konservierung mit Chloroform.

Dieser Versuch verlief noch ungünstiger als mit Toluol. Sowohl Eiweiß als Ganzei hielten die letzten Spuren von Chloroform hartnäckig zurück. Selbst bei langem Verweilen in vacuo schmeckte das trockene Präparat noch süßlich, beim Aufweichen trat der Geruch noch deutlicher, speziell bei Erwärmung, her-

vor. Der Versuch wurde genau so wie der Toluolversuch ausgeführt und ebenso abgebrochen, weil die Herstellung eines genießbaren Präparates aussichtslos erschien.

3. Konservierung mit Senföl.

Das Senföl war mir für diese Zwecke besonders empfohlen worden. Da die konservierende Kraft dieses Mittels sehr groß ist, und man demgemäß mit sehr geringen Mengen auskommen konnte, lag die Möglichkeit vor, diese geringen flüchtigen Mengen dann durch Trocknung zu beseitigen. Pettenkofer gibt im Handbuch der Hygiene **1**, 265 an, daß Milzbrandsporen in einer Konzentration von 1 : 333000 Senföl im Wachstum merklich behindert, bei 1 : 33000 völlig getötet werden. Demgemäß wurden die Konzentrationen bemessen.

I. Versuch: 500 g Vollei bis zur gießfähigen Konsistenz geschlagen, wurde mit einem Hauch Senföl an der Spitze eines Glasstabes versetzt und vermischt und sodann in den Brutschrank gestellt.

2. Tag: Kein Koagulum. Senfölgeruch ziemlich stark, aber nicht unangenehm, Farbe erscheint Schattierung dunkler, Reaktion alkalisch.

4. Tag: Keine besondere Beobachtung, Koagulum sehr gering.

5. Tag: Wenig Satz, Senfölgeruch schwächer. Geschmack leicht nach ranzigem Eierfett und Senföl.

Am 11. Tag leicht durchschüttelbarer Absatz.

Vom 11. bis 13. Tag Trocknung auf flacher Schale bei ca. 45°. Es bleibt ein leichter Geruch und Geschmack, der jedoch nicht unangenehm empfunden wurde und zur Not wie Mostrich als Würze mit in den Kauf genommen werden konnte.

II. Versuch: Wurde mit etwas größerer Menge Senföl, 1 Tropfen auf ca. 500 g Eiergemisch, gemacht. Nach 12 Tagen war eine direkte Fäulnis nicht eingetreten, wohl aber zeigte sich ein Umstand, der der Beobachtung bei den kleineren Mengen wohl entgehen konnte. Es hatte eine Umsetzung oder Verbindung des Senföls mit den Bestandteilen des Eies stattgefunden. Es machte sich schon nach 3 bis 4 Tagen ein ekelhafter Knoblauchgeruch geltend, der nach 10 bis 12 Tagen sehr stark wurde. Auch durch Trocknung war derselbe in keiner Weise zu entfernen. Die Eier selbst zeigten eine merkwürdige Art der Flüssigkeit, waren dunkler geworden und boten der von mir geübten Trocknung auf flacher Schale bedeutende Schwierigkeit.

Ein III. Versuch mit gleicher Menge Eiern und einem halben Tropfen Senföl und Infektion mit einer Spur Faulfleisch zeigte ganz ähnliche Erscheinungen, jedoch trat hier neben dem Knoblauchgeruch am 9. Tage auch deutlich ein Faulgeruch auf. Die Masse hatte ihren kolloidalen Charakter völlig verloren, war dunkel und wässerig. Trocken erschien sie fast braun; Schimmelpilze wurden nicht beobachtet.

Es wurden in Ergänzung dieser Versuche noch eine Anzahl Eier in Eiweiß und Eigelb getrennt, jedes für sich mit wenig Senföl versetzt und sofort getrocknet. Das Trockeneiweiß war fast geruchlos zu erhalten, das Eigelb dagegen hielt auch trocken den Senfölgeruch hartnäckig zurück. Der Geschmack wurde von den kostenden Kollegen direkt als unangenehm empfunden.

Nachträglich fällt mir in der Illustrierten landw. Zeitung Nr. 89 eine Notiz in die Hände: „Warnung vor giftigem Kraftfutter". Es wird darin vor Fütterung von Cruciferensamen gewarnt, weil diese wegen des darin enthaltenen Senföls für Tiere giftig wirken. Auch aus diesem Grunde, da Abmessung und sorgfältige Durchmischung ohne Mischmaschine schwierig erscheint, muß Senföl durchaus ausgeschaltet werden.

Im weiteren ging ich zu Konservierungsversuchen mit Säuren über.

Da die Eiweißstoffe des Eies mit Säuren sich zu Acidalbuminaten verbinden, so mußte zuerst eine gewisse Menge Säure zugesetzt werden. Erst nach erfolgter Neutralisation konnte der konservierend wirkende Überschuß in berechneter Menge beigegeben werden. Da zeigte es sich, daß in diesen dicken oder auch verdünnten Eiweißlösungen die feineren Indikatoren fast sämtlich versagten. Das sonst so empfindliche Kongorot gab bei Titration von 33 g Eiweiß mit $^1/_{10}$ NHCl erst nach Hinzufügung von 10 ccm den Umschlag, während Lackmus bei der Tüpfelreaktion diesen schon nach 3,5 ccm zeigt. Ebenso versagte Methylorange und Rosolsäure. Es war mithin die Notwendigkeit gegeben, völlig empirisch vorzugehen. Dieses geschah wie folgt:

4. Konservierung mit Salzsäure.

I. Versuch: a) 300 g Volleier bis zur Gießfähigkeit und schaumig geschlagen erhielten einen Zusatz von 20 ccm n-Salzsäure = 0,74 g = 0,25 %. Es trat eine leichte Koagulation ein, die sich durch Schütteln verteilen ließ. Einstellung in den Brutschrank bei den üblichen 38°.

2. Tag: Stärkeres Koagulum, schwacher Eiergeruch, Reaktion sauer, Farbe hellgelb.

3. Tag: Keine besondere Veränderung.

4. Tag: Unangenehmer Geruch, beginnt zu verderben.

5. Tag: Deutlicher Schwefelwasserstoffgeruch. Beginn von Schimmelbildung am Pfropfen.

7. Tag: Sehr schlechter Geruch, starke Schimmelbildung, Verderben.

Versuch als nicht gelungen aufgegeben.

b) Der gleiche Versuch wurde unter Zusatz von so viel HCl wiederholt, daß ihr Gehalt dem Gewicht nach $^1/_2$ % der angewandten 300 g Eier ausmachte.

2. Tag: Starkes stückiges Koagulum.

4. Tag: Koagulum recht stark. Läßt sich auch durch Schütteln nur schwierig verteilen.

7. Tag: Unangenehmer Geruch, der sich am

8. Tag zum deutlichen Fäulnisgeruch steigert.

9. Tag: Pilzbildung macht sich bemerkbar.

Der Versuch wurde abgebrochen. Weitere Versuche bei noch stärkerem HCl-Zusatz sind praktisch bedeutungslos.

Pettenkofer gibt die konservierende Kraft der Salzsäure bis zur völligen Aufhebung des Wachstums von Milzbrandsporen auf 1 : 1500 an. Die Fäulnis verhindernde Kraft erscheint wesentlich schwächer, wie es ja bekannt ist, daß auch der Mageninhalt, der doch fast 0,5 % freie Salzsäure enthält, leicht der Fäulnis anheimfällt. Ich möchte aus vorliegendem Versuche den Schluß ziehen, daß der Salzsäure wohl eine gewisse bakterizide und konservierende Kraft zukommt, daß sie aber bei längerem Zusammenwirken mit Eiweißkörpern von diesen nach und nach zu Acidalbuminaten gebunden und so unwirksam gemacht wird.

Die Salzsäure kommt also für vorliegenden Zweck nicht in Betracht.

5. Konservierung mit Essigsäure.

I. Versuch: 400 g bis zur dünnen Konsistenz geschlagene Eier wurden, mit so viel Essigsäure versetzt, daß sich ein deutlicher Essiggeruch zeigte, wie üblich bei Brutschranktemperatur gehalten.

2. Tag: Schwacher Eier- und Essiggeruch, ziemliche Koagulation, Reaktion sauer, Farbe hellgelb.

3. Tag: Koagulation durch Schütteln verteilt, keine besondere Beobachtung.

5. Tag: sehr starker Bodensatz.

10. Tag: Starker, stückiger Bodensatz, Geruch gut.

11. Tag: Durchgeschüttelt und vom 11. bis 13. Tag getrocknet. Geschmack nach etwas angekränkelten Eiern, Geruch desgleichen.

II. Versuch: Wiederholung des Versuches mit 500 g Eiern und 10 ccm 33 %iger Essigsäure unter gleichzeitiger Infektion mit etwas

fauligem Fleisch. Der Versuch verliof ganz analog dem obigen, nur daß das Koagulum noch stärker war. Geruch und Geschmack war ebenso wie oben. — Das Koagulum hatte die Konsistenz weichen Rühreies, ließ sich schwierig durchschütteln und wurde als solches mitgetrocknet. Die Aufweichungsfähigkeit des getrockneten hatte nur wenig gelitten.

Ein Geschmacksversuch wurde derart ausgeführt, daß die frisch mit Essigsäure versetzten Eier sofort getrocknet wurden. Die Trocknung nahm 3 Tage in Anspruch. Nach Wiederaufweichung wurden dieselben zu Rührei verkocht. Dieses schmeckte durchaus gut, wenngleich ein letzter schwacher Essiggeschmack, der allerdings durchaus nicht störte, sich nicht völlig durch Trocknen entfernen ließ.

6. Konservierung mit benzoesaurem Natrium.

I. 300 g frisch geschlagene Volleier erhielten 2 g pulverisiertes benzoesaures Natrium als Zusatz, wurden gut durchgeschüttelt und im Brutschrank beobachtet.

2. Tag: Niederschlag, Geruch nach Eiern. Reaktion alkalisch, Farbe dunkler.

3. Tag: Farbe noch dunkler.

4. Tag: Starker Faulgeruch und Bodensatz.

6. Tag: Deutliche Zersetzung unter Gas- und Schaumbildung, Geruch nach Schwefelwasserstoff.

II. Ein zweiter Versuch mit doppelter Menge benzoesauren Natriums — es wurden 5 g auf 300 g Eier, also 1,75 % gebracht — ergab bereits

am 5. Tag anormalen Geruch,

am 6. Tag dunkle Färbung und Niederschlag,

am 9. Tag alle Anzeichen fauliger Zersetzung.

Die desinfizierende und konservierende Kraft des benzoesauren Natriums ist also für vorliegende Zwecke absolut nicht hinreichend.

7. Konservierung mit Salicylsäure.

Bei einer Verdünnung von 1 : 1500 soll nach Pettenkofer die Salicylsäure das völlige Aufhören des Wachstums von Milzbrandbacillen bewirken.

I. Versuch: Es wurden 400 g Eier gut verrührt und mit 2 g = 0,5 %iger gepulverter, mit wenig Wasser aufgeschwemmter Salicylsäure durchgeschüttelt und in den Brutschrank gestellt.

2. Tag: Leichtes Koagulum, Farbe Schattierung dunkler, Geruch wie aufgeschlagene warme Eier.

4. Tag: Stärkeres Auftreten von Gerinnsel.

5. Tag: Leichte Schimmelbildung am Pfropfen und dumpfer Geruch.

6. Tag: Beginn von Fäulnis.

II. Versuch: Wurde sofort im Anschluß an den ersten unter gleichen Bedingungen mit 4 g = 1 % Salicylsäure angesetzt.

2. Tag: starkes Gerinnsel, Farbe dunkler mit leicht rötlichem Schimmer.

4. Tag: Gerinnsel hat sich unten festgesetzt, wird mit Glasstab entfernt und durchgeschüttelt.

5. Tag: wie oben, jedoch dumpfer Eiergeruch.

6. Tag: Keine Veränderung.

7. Tag: Keine Veränderung.

8. Tag: Keine Veränderung.

12. Tag: Geruch nach dumpfen Häckseleiern, Färbung rötlichgelb. Verderben oder Fäulnis nicht bemerkbar. Geschmack zu ertragen, jedoch nach nicht einwandfreien Eiern.

III. Versuch: Wie oben 400 g Eier mit 8 g = 2% Salicylsäure gemischt und mit einer Faser Faulfleisch infiziert.

Nach 2 Tagen: bei starkem Gerinnsel ein leichter rötlicher Schimmer, der in den folgenden 3, 4, 5 Tagen sehr stark zunahm. Es trat am 7. Tage neben dem Eiergeruch ein fremder Geruch auf, der deutlich an Carbolsäure erinnerte, also von etwas versetzter Salicylsäure herrührte. Wie mir mitgeteilt, wird dieser Geruch hin und wieder in stark mit Salicylsäure versetzten Nahrungsmitteln beobachtet.

Nach 14 Tagen hatte sich bis auf Farbe, Gerinnsel und angedeuteten Geruch nach Phenol das Eiergemisch noch unverändert gehalten.

8. Konservierung mit Borsäure.

Obwohl die Abneigung der Behörden gegen dieses Konservierungsmittel mir wohl bekannt ist, wurde dennoch die Borsäure in den Bereich der Untersuchung gezogen. Ich ging von dem Gesichtspunkte aus, daß es besser ist, wenn der Bevölkerung etwas billigere, mit der relativ unschädlichen Borsäure versetzte Eier zur Verfügung gestellt werden können, als wenn solche überhaupt fehlen, und daß man in solchen Zeiten auch Prinzipien fallen lassen kann. In der Tat brachte auch in diesem Falle die Borsäure keine Enttäuschung.

I. Versuch: 500 g in üblicher Weise geschlagene Eier wurden mit 10 g = 2% Borsäure versetzt, vermischt und in den Brutschrank gestellt.

2. Tag: Kein Niederschlag, Farbe hell, Reaktion nicht sauer.

5. Tag: Leichter Bodensatz, kein Geruch, Farbe Schattierung dunkler.

10. Tag: Durchaus gut mit leichtem Beigeschmack.

Nach 14 Tagen gut und ohne Spuren von Fäulnis oder Verderben. Auf flacher Schale getrocknet — Trockenzeit ca. 48 Stunden. — Ein Teil aufgeweicht und Rührei hergestellt. Geschmack gut, nach nicht erstklassigen Eiern, ein leichter Borsäurebeigeschmack bemerkbar.

II. Versuch: 500 g geschlagene Eier und 5 g gepulverte aufgeschwemmte Borsäure gut durchgeschüttelt, mit Faulfleisch infiziert, in den Brutschrank gestellt. Der Versuch im Brutschrank dauerte 9 Tage. Farbe, Aussehen und Geruch der Eiermasse erschien kaum verändert, der Bodensatz nur mäßig.

III Versuch: 100 g Eier und 0,5 Borsäure, also 0,5% ohne Infektion, ergab nach 6- bis 7tägigem Verweilen im Brutschrank ein Ei-

präparat von gutem etwas ranzigem Geschmack, ohne fauligen Geruch. Die Borsäure war nicht mehr herauszuschmecken.

Zusammenfassung.

1. Konservierung mit Toluol . . . . . Geschmack und Geruch nicht zu entfernen.
2. Konservierung mit Chloroform . . . Geschmack und Geruch nicht zu entfernen.
3. Konservierung mit Senföl . . . . . Sehr starker Merkaptangeruch, absolut ungenießbar.
4. Konservierung mit Salzsäure . . . . Bei 0,5% Fäulnis und Schimmelbildung.
5. Konservierung mit Essigsäure . . . Bei etwa 0,65% Ausschaltung von Fäulnis, aber starke Gerinnung und saurer Geschmack.
6. Konservierung mit benzoes. Natrium . 1,75% nach 8 bis 9 Tagen Zersetzung und Fäulnis.
7. Konservierung mit Salicylsäure . . 1 bis 2% schließen Fäulnis aus, Farbe und Geruch verändern jedoch auch dieses Präparat ungünstig.
8. Konservierung mit Borsäure . . . . 1 bis 2% ließen bei 12tägigem Verweilen im Brutschrank noch keine Fäulnis erkennen.

Nach Beendigung der Versuche bekomme ich Einsicht in die Arbeit von E. Salkowski[1]) über Verwertung und Konservierung von Blut. — Ich ersehe daraus, daß Salkowski auch bei dem verschiedenen Material, soweit er die gleichen Reagentien benutzte, zu ganz ähnlichen Resultaten gelangte wie ich. Der Verfasser hat außerdem noch Formalin benutzt, hat damit gute Resultate erzielt und erklärt in Fortsetzung der Arbeit kleine Mengen Formalin als relativ unschädlich (l. c. S. 390). Dort handelt es sich aber nicht um das konservierte Medium, sondern um das auskoagulierte und gewaschene Eiweiß. Aus theoretischen Gründen kommt Formalin bei vorliegenden Versuchen nicht in Frage. Entweder bleibt es erhalten, und dann ist es wegen seines kratzenden unangenehmen Geruches und Geschmackes unbrauchbar, da es nicht entfernt werden kann, oder es geht im Verlaufe längeren Verweilens mit den Eiweißkörpern die bekannten unlöslichen Verbindungen ein, dann wird es natürlich unwirksam und die Masse ist jeder neuen Infektion zugänglich.

[1]) Diese Zeitschr. 71, 365, 1915.

Nach dem Resultat meiner Untersuchung ziehe ich folgende Schlüsse: die Möglichkeit einer Konservierung geschlagener Eier liegt bei Zusatz genügender Mengen von Essigsäure, Salicylsäure und Borsäure vor. Im Brutschrank bei 10- bis 14tägiger Dauer konservieren diese Mittel unter oben beschriebenen Bedingungen, zum Teil allerdings unter Nebenerscheinungen, wie Gerinnsel, leichte Farbeveränderung und Nebengeschmack. Gänzlich entfernen kann man nicht einmal die Essigsäure. Es läßt sich aber aus dem Verhalten bei kleinen Mengen und 10tägiger Dauer noch kein absolut sicherer Schluß auf die natürlichen Verhältnisse ziehen. Es erscheint mir fraglich, ob ohne maschinelle Hilfe eine sorgfältige Durchmischung großer Massen Eier — und nur um solche kann es sich handeln — mit dem Konservierungsmittel durchzuführen ist. Es liegt ferner natürlich die Möglichkeit vor, daß bei monatelangem Transport das eintritt, was bei 10 bis 14 Tage Versuchszeit sich noch nicht zeigte, daß nach und nach eine Bindung der Konservierungssäuren mit dem Eiweiß zu Acidalbuminaten stattfindet und die schützende Kraft so unwirksam gemacht wird. Darüber können nur größere und möglicherweise sehr kostspielige Erfahrungen belehren. Solche Erfahrungen liegen nun allerdings vor. Es werden auch heute noch gelegentlich, wenn auch in relativ geringer Menge, Eier in nassem Zustande mit Borsäure konserviert und bei uns eingeführt. Wie mir Herr Dürigen von der Landwirtschaftlichen Hochschule mitteilt, war früher der Import von Eiern in nassem Zustande, insbesondere von Gelbei, aus Rußland nicht unerheblich. Als Konservierungsmittel wurde zunächst Alkohol benutzt, der aber infolge der Zollpolitik nicht mehr angewendet werden konnte, und später Borsäure.

Trotzdem möchte ich die Konservierung von Eiern auf nassem Wege immer nur als einen Notbehelf ansehen. Von all den vorgeschlagenen Mitteln kommt nur die Borsäure als wirklich sicheres Mittel in Betracht, daneben noch Essigsäure und Salicylsäure. Und gerade die Verwendung von Borsäure stößt nach wie vor auf den Widerstand der Reichsbehörden.

Über die Wirkung der intravenösen Infusion von hypertonischen Lösungen verschiedener Salze und einiger organischer Stoffe auf den respiratorischen Stoffwechsel.

Von

V. Henriques.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 29. Januar 1916.)

In einem Aufsatz in dieser Zeitschrift hat J. C. Raeder[1]) die Resultate einer Reihe von Versuchen mitgeteilt, die zur Untersuchung der Wirkung intravenöser Infusionen von Chlornatriumlösungen, Säuren und Alkalien auf den respiratorischen Stoffwechsel angestellt worden waren. Die unten zu besprechenden Versuche bilden gewissermaßen eine Fortsetzung von Raeders Arbeit; beide Versuchsreihen wurden angestellt als einleitende Versuche zu einer größeren Reihe von Untersuchungen über die spezifisch-dynamische Wirkung von Nahrungsstoffen. Das von mir angewandte Verfahren ist im wesentlichen dasselbe wie das von Raeder bereits beschriebene. Als Versuchstiere wurden ausschließlich Kaninchen benutzt. Nach 1- bis 2tägiger Inanition werden 2 g Urethan subcutan eingegeben. (Die allgemein angewandte Injektion von Urethan in den Ventrikel besitzt meiner Erfahrung nach keine besonderen Vorteile vor der weit bequemeren subcutanen Injektion.) Es werden Kanülen in die Trachea, Harnblase und Vena jugularis eingeführt, worauf das Tier in einen Thermostaten gebracht wird, dessen Temperatur auf 29° bis 30° gehalten wird. Die Temperaturschwankungen des Thermostaten sind ganz minimal, was sicherlich von Bedeutung ist, wo es darauf ankommt, daß der Stoffwechsel des Tieres konstant ist. Die Kanüle der Trachea wird mit einem Paar Zuntzscher sehr

[1]) Diese Zeitschr. **69**, 257, 1915.

leichtbeweglicher Respirationsventile verbunden. Die ausgeatmete Luftmenge wird an einer Gasuhr (ohne Zählwerk) gemessen, und es wird der Ausatmungsluft in gewöhnlicher Weise eine Durchschnittsprobe zur Analyse auf Sauerstoff und Kohlensäure entnommen. Die Kanüle der Vena jugularis wird mit einem Injektionsapparat verbunden, durch den ganz regelmäßig eine Lösung von NaCl (0,9 %) in die Vene injiziert wird. Die zu injizierende Flüssigkeit wird vor der Injektion in die Vene auf ca. 30° erwärmt. Die Injektionsgeschwindigkeit war in der Regel ca. 50 ccm pro Stunde. Die Operation fand nachmittags statt, und der eigentliche Versuch begann in der Regel ca. 20 Stunden danach. Während dieser Zeit wird fortwährend die NaCl-Lösung ins Blut injiziert, und der Versuch wird erst angestellt, nachdem die Harnsekretion längere Zeit im Gang gewesen ist. In der Regel setzt die Harnsekretion nach 3 bis 4 Stunden ein. Wenn dasselbe Kaninchen mehrere Tage nacheinander angewendet wird, muß mit angemessenen Zwischenräumen (in der Regel 1 mal täglich) Urethan subcutan eingegeben werden. Die längste Periode, in der ein Versuchstier benutzt wurde, betrug 5 mal 24 Stunden. Im Laufe dieser Zeit wird fortwährend Flüssigkeit in die Vena jugularis injiziert; die Harnsekretion geht regelmäßig von statten, abgesehen von den durch die Injektion starker hypertonischer Lösungen entstehenden Schwankungen. Die Respirationsversuche wurden meist in der Weise angestellt, daß erst 3 (mitunter 2 oder 4) Vorversuche von 10 Minuten Dauer unmittelbar nacheinander stattfanden; darauf beginnt die Injektion der hypertonischen Lösung. Diese Injektion dauert 1 Stunde; im Laufe dieser Zeit werden 3 Respirationsversuche angestellt, gleichfalls von 10 Minuten Dauer, worauf die Injektionsflüssigkeit durch die ursprüngliche 0,9 %ige NaCl-Lösung ersetzt wird. In dieser Nachperiode werden wieder 3 Respirationsversuche gemacht, um zu untersuchen, ob der Stoffwechsel wieder die Größe angenommen hat, die er während des Vorversuches hatte.

Es wurden zur Injektion folgende Stoffe benutzt: NaBr, NaJ, $Na_2HPO_4 + NaH_2PO_4$, Na_2SO_4, $NaNO_3$, LiCl, Harnstoff, Rohrzucker, Glycerin. Es wurden meist derartige Konzentrationen angewandt, daß die Gefrierpunktsdepression der Lösungen um —1,85 lag. In einigen Fällen (Rohrzucker) ent-

sprach die Konzentration einer Gefrierpunktsdepression von ca. — 3,7. Die Reaktion der injizierten Flüssigkeiten war nahezu neutral. Die Reaktion wurde durch Anwendung von feinfühligem Lackmuspapier bestimmt, und als vergleichende Flüssigkeit wurde eine Phosphatmischung nach S. P. L. Sörensen benutzt; die Phosphatmischung entsprach einer Wasserstoffionenkonzentration von 10^{-7}. Das angewandte Verfahren zur Einstellung der Reaktion der Flüssigkeit ist nicht besonders genau, aber die in Frage kommenden Reaktionsschwankungen sind sicherlich ohne Bedeutung für die gewonnenen Resultate, da Injektionen von sogar so sauren Lösungen wie $^n/_5$-Citronensäure keine nennenswerten Veränderungen des Stoffwechsels verursachen. In meinen späteren Versuchen wurde die Wasserstoffionenkonzentration nach S. P. L. Sörensens colorimetrischem Verfahren bestimmt. Der Vergleich zwischen diesem Verfahren und der Anwendung von Lackmuspapier ergab, daß die von mir benutzten Injektionsflüssigkeiten mitunter etwas weit nach der sauren Seite vom Neutralpunkt hin lagen (P_H = 6,8, in einzelnen Fällen vielleicht gar = 6,6). Wenn die Injektionsflüssigkeit zu weit nach der sauren Seite hin liegt, wird die Kohlensäureausscheidung anfänglich recht bedeutend zunehmen; da die Sauerstoffaufnahme in der Regel nicht durch die verhältnismäßig hohe Wasserstoffionenkonzentration beeinflußt wird, weist der respiratorische Quotient eine starke Steigerung auf.

Versuche.

A. Versuche mit NaJ, NaBr und LiCl.

Versuch 1. Kaninchen, Gewicht 3,2 kg. Von $12^h 50$ bis $2^h 16$ wird eine 10%ige Lösung von NaJ injiziert. Injektionsgeschwindigkeit ca. 50 ccm pro Stunde.

In der Vorperiode ist die Sauerstoffaufnahme in den 3 Versuchen nahezu die gleiche. Nach der Injektion der NaJ-Lösung beginnt der Stoffwechsel abzunehmen, und bei Versuch 6 ist der Abfall der Sauerstoffaufnahme gleich $7,7\%$. Dieser nicht besonders große Abfall setzt sich in der Nachperiode fort, und gleichzeitig sinkt die Temperatur des Tieres. Um 6^h war die Körpertemperatur auf 36^0 gesunken. Die verhältnismäßig hohen respiratorischen Quotienten, die bedeutend höher sind als die bei Injektion von 1%iger NaCl-Lösung

Tabelle I.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	4.IX.								
1	12^{02}	11,84	1,67	18,95	339	429	0,79	37,6	Vorversuch
2	12^{30}	11,69	1,62	18,95	325	425	0,76	37,6	
3	12^{36}	11,79	1,62	18,96	328	427	0,77	37,6	
4	1^{08}	11,03	1,82	18,80	345	428	0,81	37,6	Injektion von 10 % NaJ
5	1^{37}	10,07	1,88	18,70	325	410	0,79	37,6	
6	2^{06}	8,29	2,17	18,32	309	394	0,78	37,6	
7	2^{45}	7,65	2,29	18,23	301	376	0,80	37,0	Nachperiode
8	3^{40}	7,70	2,29	18,39	303	350	0,86	37,0	
9	4^{30}	6,80	2,44	18,12	285	345	0,82	37,0	

beobachteten, wenn das Tier einer 1- bis 2tägigen Inanition ausgesetzt gewesen, rühren davon her, daß zur ursprünglichen Injektionsflüssigkeit sowie zur NaJ-Lösung ca. 2 % Traubenzucker gesetzt worden waren. In einigen der folgenden Versuche beruhten die hohen Quotienten (d. h. ca. 0,8 statt 0,7) auf derselben Ursache. Das Resultat des Versuches ist also eine fortwährende Abnahme des respiratorischen Stoffwechsels, welche Abnahme sich nach aufgehörter Injektion der NaJ-Lösung fortsetzt.

Versuch 2. Kaninchen, Gewicht 2,8 kg. Das Kaninchen lag 5 Tage hindurch bei permanent intravenöser Injektion in der Urethannarkose. Das Tier wurde außer zu Versuch 2 auch zu Versuch 3 und Versuch 4 benutzt. Von 12^h28 bis 1^h33 wurde eine 12,8 %ige NaJ-Lösung injiziert. Injektionsgeschwindigkeit ca. 45 ccm pro Stunde. Die Diurese, die durchschnittlich 47 ccm pro Stunde betrug, nahm während der Injektion von NaJ sehr stark zu und betrug von 12^h30 bis 2^h 126 ccm.

Auch in diesem Versuch bewirkt die NaJ-Injektion eine Abnahme des Stoffwechsels; die Abnahme setzt sich in der Nachperiode fort oder vielmehr hält sich in derselben. In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme pro Kilogramm und Stunde im Durchschnitt von 3 Versuchen 415 ccm. Während der Injektion der NaJ-Lösung nimmt der Stoffwechsel um 12,3 % ab und bleibt die folgenden $3^1/_2$ Stunden niedrig. Am folgenden Tag (s. Versuch 3) hat der Stoffwechsel wieder von

Tabelle II.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min.	Exspirationsluft		ccm (red.) pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur	Bemerkungen
		l	CO_2 %	O_2 %	CO_2	O_2		°C	
	14. IX.								
1	11^{46}	6,52	2,31	17,90	294	417	0,71	37,05	
2	12^{00}	6,42	2,40	17,79	301	424	0,71	37,02	
3	12^{14}	6,48	2,38	17,94	301	405	0,74	37,0	
4	12^{48}	6,31	2,36	17,79	291	419	0,70	36,93	Injektion v. 12,8 % NaJ
5	1^{00}	5,81	2,47	17,70	281	395	0,71	37,0	
6	1^{30}	5,33	2,62	17,66	273	364	0,75	37,02	
7	1^{55}	5,20	2,98	17,32	303	389	0,78	36,9	
8	3^{16}	5,77	2,56	17,93	289	356	0,81	37,6	
9	5^{18}	4,98	2,69	17,45	262	364	0,72	36,0	

364 ccm Sauerstoff pro Kilogramm und Stunde auf 456 ccm zugenommen.

Versuch 3. Dasselbe Kaninchen wie bei Versuch 2 und 4, Gewicht 2,8 kg. Von $1^h 02$ bis $2^h 10$ wurde eine 8,8 %ige NaJ-Lösung injiziert. Injektionsgeschwindigkeit ca. 50 ccm pro Stunde.

Tabelle III.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min.	Exspirationsluft		ccm (red.) pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur	Bemerkungen
		l	CO_2 %	O_2 %	CO_2	O_2		°C	
	15. IX.								
1	12^{16}	5,99	2,94	17,29	347	456	0,76	37,25	
2	12^{35}	6,09	2,95	17,35	354	456	0,78	37,28	
3	12^{48}	6,20	2,85	17,46	348	449	0,77	37,3	
4	1^{26}	6,41	2,70	17,71	341	430	0,79	37,4	Injektion von 8,8 % NaJ
5	1^{40}	6,67	2,73	17,79	359	433	0,83	37,43	
6	1^{55}	6,77	2,59	17,98	345	412	0,84	37,5	
7	2^{32}	6,08	2,91	17,29	348	465	0,75	37,5	Muskelbewegungen
8	3^{17}	5,85	2,79	17,62	321	403	0,80	37,42	
9	4^{23}	6,13	2,81	17,70	339	409	0,83	37,4	

In der Vorperiode ist die Sauerstoffaufnahme sehr konstant, im Durchschnitt 454 ccm pro Kilogramm und Stunde. Während der Injektion der NaJ-Lösung nimmt die Sauerstoffaufnahme bis auf 412 ccm, d. h. um 9,3 % ab. In der Nachperiode setzt die Abnahme sich fort. Die Zunahme in Nr. 7 rührt nämlich von deutlichen Muskelbewegungen in den Extremitäten her.

Solche Muskelbewegungen kann man ab und zu in Fällen beobachten, wo die Respirationsversuche längere Zeit nach der Urethaneingabe stattfinden. Das Ergebnis der NaJ-Injektion ist hier also wiederum eine deutliche, wenn auch keine starke Abnahme des Stoffwechsels; die Abnahme setzt sich auch hier in der Nachperiode fort.

Versuch 4. Dasselbe Kaninchen wie bei Versuch 2 und 3. Gewicht 2,8 kg. Von 12h55 bis 2h03 wurde eine 8,8%ige Lösung von NaBr injiziert. Gefrierpunktserniedrigung $\Delta =$ ca. — 3,19°. Injektionsgeschwindigkeit ca. 40 ccm pro Stunde.

Tabelle IV.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	13. IX.								
1	12¹⁵	8,56	2,11	18,27	353	477	0,74	37,75	
2	12²⁸	8,60	2,01	18,32	338	474	0,71	37,8	
3	12⁴¹	8,83	1,97	18,43	340	464	0,73	37,8	
4	1¹⁰	8,77	1,92	18,40	329	469	0,70	37,82	Injektion v. 8,8% NaBr
5	1³²	8,26	1,99	18,33	321	453	0,70	37,82	Injektion v. 8,8% NaBr
6	1⁵⁰	7,99	2,10	18,31	328	439	0,75	37,75	Injektion v. 8,8% NaBr
7	2¹⁵	7,38	2,18	18,19	314	424	0,74	37,7	
8	2⁵⁵	8,55	2,01	18,29	336	478	0,70	37,6	Muskelbewegungen
9	3⁵⁵	7,16	2,02	18,14	283	425	0,66	37,56	
10	6³⁵	7,59	1,90	18,39	282	409	0,69	37,15	

In der Vorperiode betrug die Sauerstoffaufnahme pro Kilogramm und Stunde durchschnittlich 472 ccm. Während der Injektion der NaBr-Lösung nahm die Sauerstoffaufnahme bis auf 439 ccm, d. h. um 7% ab. In der Nachperiode setzt die Abnahme sich fort. Auch hier in einem vereinzelten Versuch (Nr. 8) eine vorübergehende Zunahme des Stoffwechsels; sie rührt von leichten Muskelbewegungen verhältnismäßig kurzer Dauer her.

Die Ergebnisse der Versuche mit NaJ und NaBr stimmen gut überein, indem man in beiden Fällen durch Injektion starker hypertonischer Lösungen in die Vena jugularis eine Stoffwechselabnahme von ca. 10% erzielt; die Abnahme setzt sich eine Zeitlang nach aufgehörter Injektion fort. Die Wir-

kung dieser Salzlösungen unterscheidet sich also in nicht geringem Grade von der Wirkung der NaCl-Lösungen. Nach Raeder[1]) bewirken 4,5%ige und 9%ige NaCl-Lösungen kurz nach Anfang der Injektion eine Stoffwechselzunahme von 5 bis 10%, worauf der Stoffwechsel langsam bis auf die ursprüngliche Größe abnimmt. Ein paar Stunden, nachdem die Injektion der starken hypertonischen Lösungen aufgehört hat, ist der Stoffwechsel wieder normal. Der Unterschied muß natürlich an der verschiedenen Wirkung der drei Anionen Cl, J und Br auf die Zellen des Organismus liegen. Daß auch das Kation von Bedeutung ist, erhellt aus dem untenstehenden Versuch mit LiCl.

Versuch 5. Kaninchen, Gewicht 3,2 kg. Im Laufe des Tages wird zweimal eine 3,5%ige Lösung von LiCl injiziert, das erstemal von 12^h47 bis 1^h50, das zweitemal von 4^h15 bis 5^h20. Injektionsgeschwindigkeit ca. 50 ccm pro Stunde. Gefrierpunktserniedrigung: Δ = ca. — 3,1°.

Tabelle V.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min.	Exspirationsluft		ccm (red.) pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur	Bemerkungen
			CO_2	O_2					
		l	%	%	CO_2	O_2		°C	
	27. IX.								
1	12^{08}	11,51	1,83	18,57	358	499	0,72	37,03	
2	12^{20}	11,27	1,90	18,61	364	475	0,77	37,1	
3	12^{33}	11,46	1,71		333			37,1	
4	1^{04}	9,53	1,92	18,33	311	459	0,68	37,12	
5	1^{19}	8,94	1,93	18,35	293	426	0,69	37,3	Injektion von 3,5% LiCl
6	1^{35}	9,56	1,91	18,58	310	408	0,76	37,2	
7	2^{15}	10,25	1,74	18,77	303	404	0,75	37,22	
8	2^{40}	10,74	1,71	18,91	312	393	0,80	37,22	
9	3^{50}	10,08	1,91	18,71	327	403	0,81	37,1	
10	4^{03}	10,05	1,82	18,69	311	410	0,76	37,1	
11	4^{33}	10,10	1,89	18,75	325	395	0,82	37,18	
12	4^{50}	11,98	1,41	19,20	287	379	0,76	37,18	Injektion von 3,5% LiCl
13	5^{10}	13,98	1,29	19,47	307	368	0,83	37,12	
14	6^{12}	5,74	1,34	19,18	131	186	0,70	36,7	

In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme durchschnittlich 487 ccm pro Kilogramm und Stunde. Während der Injektion der LiCl-Lösung sinkt die Sauerstoffaufnahme auf

[1]) l. c.

408 ccm (um 16,2 %). In der Nachperiode ist der Stoffwechsel fortwährend niedrig und beträgt im Durchschnitt von 4 Versuchen 403 ccm Sauerstoff pro Kilogramm und Stunde. Eine neue Injektion derselben Lösung von LiCl wie bei der ersten Injektion erzeugt wieder eine Abnahme der Sauerstoffaufnahme von 8,7 %. Kurz nach Aufhören der Injektion sank der Stoffwechsel auf ein Minimum hinab, und es trat kurz darauf um $6^h 30$ der Tod ein.

Versuch 6. Kaninchen, Gewicht 3,0 kg. Von $1^h 38$ bis $2^h 50$ wurde eine 2 %ige Lösung von LiCl injiziert. Injektionsgeschwindigkeit 48 ccm pro Stunde. $\Delta = ca. - 1{,}7^0$.

Tabelle VI.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min.	Exspirationsluft		ccm (red.) pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur	Bemerkungen
		l	CO_2 %	O_2 %	CO_2	O_2		°C	
	29. IX.								
1	1^{00}	10,28	2,10	18,30	396	532		39,18	
2	1^{18}	10,41	2,13	18,18	407	566		39,15	
3	1^{25}	10,03	2,15	18,17	396	547		39,12	
4	2^{03}	9,42	2,11	18,20	365	509		39,04	
5	2^{20}	9,10	2,08	18,24	339	486		39,01	
6	2^{36}	9,38	2,06	18,34	355	479		39,0	
7	3^{08}	10,08	2,01	18,42	372	498		39,1	
8	3^{38}	10,38	2,03	18,47	387	499		39,0	
9	3^{55}	10,13	2,14	18,29	398	525		38,9	

Dieser Versuch ist dem vorigen, in dem die angewandte Konzentration der LiCl-Lösung eine höhere war, darin ähnlich, daß der Stoffwechsel während der Injektion von LiCl abnimmt. In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme 548 ccm; sie sinkt aber in der eigentlichen Versuchsperiode bis auf 479 ccm, d. h. um 12,6 %. In der Nachperiode steigert sich jedoch die Sauerstoffaufnahme in diesem Versuch wieder bis auf 525 ccm und ist also nur um etwas über 4 % niedriger als in der Vorperiode.

Starke hypertonische LiCl-Lösungen wirken also bei permanent intravenöser Injektion in ähnlicher Weise wie die Injektion von NaBr und NaJ; jedoch nimmt bei der LiCl-Injektion der Stoffwechsel mehr ab, was sicherlich auf der recht bedeutenden Giftigkeit des Li-Ions beruht.

B. Versuche mit Na_2SO_4, $NaNO_3$ und $Na_2HPO_4 + NaH_2PO_4$.

Versuch 7. Kaninchen, Gewicht 2,8 kg. Von $11^h 35$ bis $12^h 35$ wird eine $15\,^0/_0$ige Lösung von $Na_2SO_4 + 10\,H_2O$ injiziert. Injektionsgeschwindigkeit 47 ccm pro Stunde. $\Delta =$ ca. — 1,7°.

Tabelle VII.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	9. XI.								
1	10^{55}	9,42	1,94	18,52	359	478	0,75	37,09	Vorversuch
2	11^{08}	9,51	1,83	18,54	342	484	0,71	37,02	
3	11^{20}	9,31	1,87	18,51	342	478	0,72	37,0	
4	11^{58}	9,75	1,83	18,72	351	452	0,78	37,01	Injekt. von 15%Na_2SO_4 + $10\,H_2O$
5	12^{11}	9,99	1,66	18,66	326	487	0,67	37,01	
6	12^{23}	10,10	1,85	18,75	367	461	0,80	36,88	
7	1^{06}	10,85	1,78	18,93	380	450	0,84	36,72	Nachversuch
8	1^{56}	10,19	1,72	18,78	345	463	0,74	36,82	
9	5^{24}	8,75	2,00	18,34	344	480	0,72	37,1	

Diurese:

Zeit	Harn ccm
10^{30}–11^{00}	10
11^{00}–11^{30}	10
11^{30}–12^{00}	38
12^{00}–12^{30}	100
12^{30}– 1^{00}	58
1^{00}– 1^{30}	23
1^{30}– 2^{00}	19
2^{00}– 2^{30}	13
2^{30}– 3^{00}	13

In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme 480 ccm pro Kilogramm und Stunde. Die Injektion der Na_2SO_4-Lösung bewirkt eine Stoffwechselabnahme (mit Ausnahme von Versuch 5, wo die Sauerstoffaufnahme, möglicherweise wegen der enorm gesteigerten Diurese, dieselbe Größe hat wie in der Vorperiode); diese Abnahme setzt sich etwas in die Nachperiode hinein fort; ca. 5 Stunden nach Aufhören der Injektion hat der Stoffwechsel wieder die ursprüngliche Größe. Den niedrigsten Wert der Sauerstoffaufnahme haben wir in Versuch 7; die Abnahme beträgt doch nicht über $6{,}3\,^0/_0$. Die Diurese steigert sich während der Injektion der Na_2SO_4-Lösung bis auf 100 ccm in 30 Minuten. Trotz dieser enormen Diurese ist der Stoffwechsel nicht vermehrt. Alles in allem zeigt der Versuch, daß die Injektion einer $15\,^0/_0$igen Na_2SO_4-Lösung eine deutliche, wenn auch nur geringe Abnahme des Stoffwechsels bewirkt; nach einigen Stunden hat der Stoffwechsel wieder seine ursprüngliche Größe.

Versuch 8. Kaninchen, Gewicht 2,7 kg; wurde am vor-

hergehenden Tage zu Versuch 9 benutzt. Von 12^h bis 1^h wird eine $30\,^0/_0$ige Lösung von $Na_2SO_4 + 10\,H_2O$ injiziert. Injektionsgeschwindigkeit 48 ccm pro Stunde. $\varDelta =$ ca. — $3{,}4^0$.

Tabelle VIII.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 $^0/_0$	Exspirationsluft O_2 $^0/_0$	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	23. XI.								
1	11^{31}	6,49	2,40	17,71	327	476	0,69	37,08	Vorversuch
2	11^{44}	6,68	2,42	17,77	340	477	0,71	37,05	Vorversuch
3	12^{30}	7,88	2,18	18,33	361	457	0,79	36,92	Injekt. von $30\,^0/_0$ $Na_2SO_4 + 10\,H_2O$
4	12^{34}	7,42	2,06	18,26	321	449	0,72	36,82	Injekt. von $30\,^0/_0$ $Na_2SO_4 + 10\,H_2O$
5	12^{47}	7,14	2,03	18,27	305	432	0,70	36,62	Injekt. von $30\,^0/_0$ $Na_2SO_4 + 10\,H_2O$
6	1^{35}	5,45	2,44	17,66	279	405	0,69	36,32	Nachversuch
7	3^{08}	5,81	2,58	17,62	315	433	0,73	36,1	Nachversuch
8	4^{40}	5,89	2,70	17,38	334	473	0,71	36,3	Nachversuch

Diurese:

Zeit	Harn ccm
11^{15}—11^{30}	18
11^{30}—11^{45}	15
11^{45}—12^{00}	13
12^{00}—12^{15}	40
12^{15}—12^{30}	61
12^{30}—12^{45}	55
12^{45}— 1^{00}	55
1^{00}— 1^{30}	52
1^{30}— 2^{00}	18
2^{00}— 3^{00}	34
3^{00}— 4^{00}	34
4^{00}— 5^{00}	35
5^{00}— 6^{00}	24

In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme 477 ccm. Die Injektion einer $30\,^0/_0$igen Na_2SO_4-Lösung bewirkt, wie im vorigen Versuch die Injektion einer $15\,^0/_0$igen Lösung desselben Salzes, einen Abfall des Stoffwechsels, der ca. $^1/_2$ Stunde nach Aufhören der Injektion das Maximum erreicht; ca. 4 Stunden später hat die Sauerstoffaufnahme wieder die ursprüngliche Größe. Die Stoffwechselabnahme beträgt $15{,}1\,^0/_0$; die Diurese steigert sich bei der Salzinjektion bis auf die bedeutende Höhe von 61 ccm in 15 Minuten; nichtsdestoweniger nimmt der Stoffwechsel, wie erwähnt, ab.

Versuch 9. Kaninchen, Gewicht 2,6 kg. Von 11^h30 bis 12^h30 wird eine $8{,}5\,^0/_0$ige Lösung von $NaNO_3$ injiziert. Injektionsgeschwindigkeit 50 ccm pro Stunde. $\varDelta =$ ca. — $3{,}0^0$.

In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme im Durchschnitt der 3 Versuche 478 ccm. Während der Injektion ist der Stoffwechsel im ganzen unverändert (nur in Versuch 4 um wenige Prozent gesteigert). Auch im ersten Versuch in der Nachperiode (Versuch 7) ist der Stoffwechsel nahezu derselbe wie in der Vorperiode, aber darauf nimmt der Stoff-

Tabelle IX.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen	Diurese: Zeit	Diurese: Harn ccm
	3. III.										
1	10^{51}	12,12	1,30	19,19	338	494	0,68	36,4	Vorversuch		
2	$.11^{03}$	12,03	1,32	19,27	340	464	0,73	36,4			
3	11^{15}	11,78	1,32	19,20	333	477	0,70	36,35			
4	11^{50}	13,44	1,39	19,30	400	501	0,80	36,25	Injekt. von 8,5 % $NaNO_3$-Lösung	9^{00}–11^{00}	55
5	12^{07}	13,16	1,11	19,39	313	479	0,65	36,12		11^{00}–11^{30}	14
6	12^{30}	12,86	1,16	19,36	320	477	0,67	36,0		11^{30}–12^{00}	65
										12^{00}–12^{30}	91
7	12^{58}	10,17	1,31	19,02	286	462	0,62	35,72	Nachversuch	12^{30}– 1^{00}	48
8	1^{43}	10,39	1,40	19,19	312	419	0,74	35,6		1^{00}– 1^{30}	17
										1^{30}– 2^{00}	10

wechsel ab, und gleichzeitig fällt die Körpertemperatur des Tieres, wahrscheinlich wegen Schleim in der Trachea. Die Diurese steigert sich während der Injektion der $NaNO_3$-Lösung sehr stark (von 14 bis auf 91 ccm in 30 Minuten). Trotz der bedeutend gesteigerten Diurese hat der Stoffwechsel also nicht zugenommen.

Versuch 10. Kaninchen, Gewicht 2,7 kg; wurde am vorhergehenden Tage zu Versuch 15 benutzt. Von 12^h05 bis 1^h05 wurde eine aus 3 Teilen 7 % $Na_2H_2PO_4$ + 7 Teilen 7,5 % Na_2HPO_4 bestehende Lösung injiziert. $\Delta =$ ca. — 1,85°. Das Gemisch der beiden Salzlösungen wurde gewählt, damit die Flüssigkeit eine angemessene Wasserstoffionenkonzentration erhalten sollte[1]). Injektionsgeschwindigkeit 46 ccm.

Tabelle X.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen	Diurese: Zeit	Diurese: Harn ccm
	4. II.										
1	11^{28}	5,03	3,32	16,51	350	502	0,70	36,61	Vorversuch		
2	11^{40}	5,09	3,21	16,68	342	487	0,70	36,62			
3	11^{52}	5,12	3,22	16,61	345	500	0,69	36,68			
4	12^{25}	6,64	2,90	17,61	403	484	0,83	36,7	Injekt. von 3 Tln. 7 % NaH_2PO_4 + 7 Tln. 7,5 % Na_2HPO_4	11^{30}–12^{00}	14
5	12^{38}	7,30	2,63	18,01	402	465	0,87	36,6		12^{00}–12^{30}	19
6	12^{51}	8,03	2,37	18,27	399	468	0,85	36,5		12^{30}– 1^{00}	58
										1^{00}– 2^{00}	47
7	1^{40}	7,61	2,02	18,11	322	491	0,66	36,22	Nachversuch	2^{00}– 3^{00}	28
8	4^{33}	6,40	2,62	17,57	351	472	0,73	36,1		3^{00}– 4^{00}	24

[1]) Siehe S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. 21, 1909.

Die Sauerstoffaufnahme beträgt in der Vorperiode im Durchschnitt 496 ccm pro Kilogramm und Stunde. Während der Injektion nimmt die Sauerstoffaufnahme etwas, aber nicht viel ab; der niedrigste Wert der Sauerstoffaufnahme entspricht einem Abfall von 6,3 %. In der Nachperiode erreicht die Sauerstoffaufnahme wieder ihren ursprünglichen Wert. Die Diurese ist hier, wie in den vorhergehenden Versuchen, sehr beträchtlich gesteigert (von 19 ccm bis auf 58 ccm in 30 Minuten). Die Stoffwechselabänderung stellt sich also, trotz der starken diuretischen Wirkung, als ein kleiner Abfall der Sauerstoffaufnahme heraus. Ganz anders verhält es sich in betreff der Kohlensäureproduktion, indem diese durch die Injektion um 16,5 % gesteigert wird. Das bedeutet selbstverständlich nicht, daß die Kohlensäurebildung des Organismus vermehrt worden ist, sondern beruht nur auf dem Umstand, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Injektionsflüssigkeit zu hoch war, d. h. höher als die der zuvor angewandten NaCl-Lösung. In dem Falle wird ein Teil des im Blute vorhandenen Bicarbonats gespalten und CO_2 abgeben. Es muß sich dann eine starke Steigerung des respiratorischen Quotienten ergeben, was auch der Fall ist, indem der Quotient von 0,7 auf 0,87 steigt. Nach aufgehörter Injektion nimmt die Kohlensäureausscheidung ab, die Sauerstoffaufnahme zu: der Quotient sinkt bis auf 0,66.

Versuch 11. Kaninchen, Gewicht 3 kg. Von $1^h 38$ bis $2^h 42$ wird eine ungefähr ähnliche Lösung wie im vorhergehenden Versuch injiziert, die aus 1 Teil 7 %iger NaH_2PO_4 + 9 Teilen Na_2HPO_4 besteht. Die Lösung wurde nach der colorimetrischen Methode von S. P. L. Sörensen auf eine Wasserstoffionenkonzentration von $10^{-7,4}$ eingestellt. Injektionsgeschwindigkeit 49 ccm pro Stunde.

Die Sauerstoffaufnahme in der Vorperiode beträgt 433 ccm pro Kilogramm und Stunde; bei der Injektion der Phosphatlösung nimmt der Stoffwechsel unbedeutend zu; die größte Zunahme (Versuch 4) beträgt nur 5,3 %; nach Aufhören der Injektion sank der Stoffwechsel wieder auf seine ursprüngliche Größe hinab. In diesem Versuch — im Gegensatz zu dem vorhergehenden — war die Reaktion der Injektionsflüssigkeit beinahe gleich der des Blutes, indem die Kohlensäureaus-

Tabelle XI.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	12. II.								
1	1^{12}	8,10	2,14	18,23	318	431	0,74	37,3	
2	1^{25}	8,28	2,23	18,24	339	435	0,78	37,25	
3	2^{07}	9,90	1,92	18,61	349	449	0,78	37,16	Injektion von 1 Teil 7% NaH_2PO_4 + 9 Teile 7,5% Na_2HPO_4
4	2^{19}	9,90	1,87	18,59	340	456	0,75	37,16	
5	2^{31}	10,08	1,80	18,69	333	444	0,75	37,1	
6	3^{16}	9,47	1,78	18,64	310	430	0,72	36,85	
7	4^{07}	9,59	1,82	18,69	321	428	0,76	36,65	

scheidung sich bei der Injektion des Phosphatgemisches nur unbedeutend abändert. Die respiratorischen Quotienten sind daher in allen Versuchen sozusagen die gleichen. Die Diurese steigert sich stark bei der Injektion der Phosphatmischung (von 9 ccm auf 53 ccm in 30 Minuten); trotzdem ist die Wirkung auf den Stoffwechsel ganz gering.

C. Versuche mit Rohrzucker.

Versuch 12. Kaninchen, Gewicht 2,4 kg. Von 3^h bis $4^h 33$ wurde eine 25%ige Lösung von Rohrzucker injiziert, in den ersten 25 Minuten nur 5 ccm, da die Maschine ins Stehen geraten war, im ganzen 49 ccm gleich 12,25 g Rohrzucker. Δ = ca. — 1,4.

Tabelle XII.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	15. X.								
1	2^{19}	8,88	1,88	18,53	393	542	0,73	38,5	Vorversuch
2	2^{32}	8,28	1,88	18,43	367	529	0,69	38,45	
3	2^{44}	8,56	1,86	18,51	375	528	0,71	38,42	
4	3^{19}	8,53	1,86	18,56	374	512	0,73	38,22	Injektion von 25% Rohrzuckerlösung
5	3^{36}	8,52	1,89	18,51	379	524	0,72	38,2	
6	4^{00}	8,17	1,95	18,42	375	522	0,72	38,12	
7	4^{20}	7,88	1,93	18,43	358	501	0,71	38,05	
8	4^{55}	8,44	1,96	18,55	390	505	0,77	38,0	Nachversuch
9	5^{21}	8,49	1,87	18,54	374	516	0,72	38,02	
10	6^{30}	8,13	1,98	18,34	379	536	0,71	38,02	

Aus dem Versuche ergeben sich sehr geringe Stoffwechselschwankungen. In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme 533 ccm pro Kilogramm und Stunde, und in den 4 Stunden und 20 Minuten, in denen Respirationsversuche angestellt wurden, beträgt die größte Stoffwechselabnahme (Versuch 7) nur 6 % vom Wert in der Vorperiode. In der Nachperiode nimmt der Stoffwechsel wieder langsam bis auf die ursprüngliche Größe zu. Interessant ist es, daß die respiratorischen Quotienten während der Zuckerinjektion nicht zunehmen, was darauf deutet, daß der Zucker nicht in nennenswertem Grade verbrennt. Auf die Frage vom Verhalten des Rohrzuckers im Organismus werde ich im übrigen nicht näher eingehen, da in Bälde aus gegenwärtigem Laboratorium eine Reihe von Versuchen darüber erscheinen wird.

Versuch 13. Kaninchen, Gewicht 3,2 kg. Von 12^{h}50 bis 1^{h}50 werden 45 ccm einer 32 %igen Rohrzuckerlösung injiziert Δ = ca. — 2,0.

Tabelle XIII.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen	Diurese: Zeit	Diurese: Harn ccm
	27.X.										
1	12^{09}	11,73	1,52	18,89	321	470	0,70	37,31	Vorversuch		
2	12^{23}	11,31	1,51	18,86	307	462	0,66	37,31			
3	12^{36}	12,03	1,44	19,06	311	439	0,71	37,29			
4	1^{10}	11,64	1,51	18,91	316	460	0,69	37,2	Injekt. einer 32 %igen Rohrzuckerlösung	12^{00}–12^{30}	11
5	1^{25}	11,73	1,53	18,98	323	445	0,73	37,18		12^{30}– 1^{00}	20
6	1^{40}	11,64	1,56	18,85	326	475	0,69	37,12		1^{00}– 1^{30}	60
										1^{30}– 2^{00}	60
7	2^{20}	12,07	1,51	19,10	328	425	0,77	37,08	Nachversuch	2^{00}– 2^{30}	28
8	3^{38}	11,08	1,58	18,90	315	438	0,72	37,02		2^{30}– 3^{00}	24
9	7^{05}	8,93	1,91	18,40	307	440	0,70	36,9		3^{00}– 3^{30}	22
										3^{30}– 4^{00}	13

Die Wirkung der Injektion auf den Stoffwechsel ist sozusagen gleich Null. In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme durchschnittlich 457 ccm pro Kilogramm und Stunde. Während der Zuckerinjektion weicht die Sauerstoffaufnahme um — 2,6 % und + 3,9 % von diesem Wert ab, welche Ausschläge innerhalb der Fehlergrenze liegen. In der Nachperiode ist (bei Versuch 7) ein geringer Abfall zu verspüren, worauf

die Sauerstoffaufnahme bis zu den Werten in der Vorperiode ansteigt. Auch in diesem Versuch liegen keine Abänderungen der respiratorischen Quotienten von Bedeutung vor; die Injektion der starken Zuckerlösung war also ohne Bedeutung für den Stoffwechsel. Dagegen liegt, wie zu vermuten war, nach der Zuckerinjektion eine sehr gesteigerte Diurese vor.

Versuch 14. Kaninchen, Gewicht 2,7 kg. Von 1^h03 bis 2^h12 Injektion einer 34,2%igen Rohrzuckerlösung. Injektionsgeschwindigkeit 45 ccm pro Stunde (im ganzen wurden 17,8 g Zucker injiziert).

Tabelle XIV.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	18. X.								
1	12^{35}	9,04	2,40	17,91	457	618	0,74	39,31	Vorversuch
2	12^{50}	9,28	2,37	17,95	463	628	0,74	39,3	
3	1^{30}	9,21	2,48	17,84	481	640	0,75	39,25	Injekt. einer 34,2%igen Rohrzuckerlösung
4	1^{35}	9,13	2,42	17,87	465	630	0,74	39,2	
5	1^{55}	9,64	2,39	17,94	485	649	0,75	39,21	
6	2^{26}	10,31	2,20	18,21	477	631	0,76	39,15	Nachversuch (Muskelbewegung)
7	3^{45}	9,83	2,48	17,76	518	703	0,73	39,15	
8	6^{24}	8,51	2,62	17,60	469	639	0,73	39,1	

Diurese: Zeit	Harn ccm
12^{30}—1^{00}	22
1^{00}—1^{30}	40
1^{30}—2^{00}	70
2^{00}—2^{30}	81
2^{30}—3^{00}	47
3^{00}—4^{00}	35
4^{00}—5^{00}	60
5^{00}—6^{00}	22

Auch in diesem Versuch keine nennenswerte Abänderung des Stoffwechsels. In der Vorperiode beträgt die Sauerstoffaufnahme 623 ccm pro Kilogramm und Stunde; während der Injektion ist der höchste Wert 649 ccm, was einer Steigerung von nur 4,2% entspricht. In der Nachperiode ist der Stoffwechsel wieder ein wenig geringer als in der Injektionsperiode, ausgenommen jedoch Versuch 7, wo der Stoffwechsel wegen leichter Muskelbewegungen zugenommen hat. Die respiratorischen Quotienten sind von der Zuckerinjektion unbeeinflußt; die Diurese steigert sich von 22 ccm auf 81 ccm in 30 Minuten.

Versuch 15. Kaninchen, Gewicht 2,7 kg. Von 1^h bis 2^h Injektion einer 68,4%igen Rohrzuckerlösung. Injektionsgeschwindigkeit 43 ccm pro Stunde. Im ganzen 29,4 g Rohrzucker injiziert.

Tabelle XV.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min.	Exspirationsluft		ccm (red.) pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur	Bemerkungen	Diurese:	
		l	CO_2 %	O_2 %	CO_2	O_2		°C		Zeit	Harn ccm
	3. XI.										
1	12^{00}	6,49	3,09	17,13	422	551	0,76	37,9	Vorperiode		
2	12^{34}	6,77	3,12	17,28	444	547	0,81	37,82			
3	12^{47}	6,68	3,08	17,21	433	554	0,78	37,9			
4	1^{20}	6,24	3,19	16,99	418	550	0,76	37,85	Injekt. einer 68,4%igen Rohrzuckerlösung	12^{00}—12^{30}	25
5	1^{33}	6,18	3,27	16,85	425	564	0,75	37,8		12^{30}— 1^{00}	25
6	1^{46}	5,98	3,42	16,69	430	567	0,76	37,72		1^{00}— 1^{30}	81
										1^{30}— 2^{00}	158
7	2^{20}	5,70	3,40	16,73	408	538	0,76	37,58	Nachperiode	2^{00}— 2^{30}	91
8	3^{47}	5,99	3,28	16,96	413	529	0,78	37,6		2^{30}— 3^{00}	31
9	6^{25}	6,27	3,23	16,79	426	584	0,73	37,82		3^{00}— 3^{30}	26
										3^{30}— 4^{00}	15

Die Wirkung der Injektion der dickflüssigen, sirupösen Zuckerlösung ist ganz gering, indem die Sauerstoffaufnahme nur um 2,9% zunimmt, was innerhalb der Fehlergrenze liegt. Die respiratorischen Quotienten steigern sich nicht, wohingegen die Diurese von 25 ccm auf 158 ccm in 30 Minuten zunimmt.

Versuch 16. Kaninchen, Gewicht 2,7 kg. Das Tier wurde an den beiden vorhergehenden Tagen zu Versuch 17 und Versuch 8 benutzt. Von 2^h bis 3^h Injektion einer 68,4%igen Rohrzuckerlösung. Injektionsgeschwindigkeit 45 ccm pro Stunde. Im ganzen 30,8 g Zucker injiziert.

Tabelle XVI.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min.	Exspirationsluft		ccm (red.) pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur	Bemerkungen	Diurese:	
		l	CO_2 %	O_2 %	CO_2	O_2		°C		Zeit	Harn ccm
	24. XI.										
1	1^{15}	5,74	2,28	17,79	276	414	0,67	36,6	Vorperiode		
2	1^{28}	5,67	2,31	17,81	276	404	0,68	36,6			
3	1^{46}	5,62	2,29	17,82	272	401	0,68	36,58			
4	2^{24}	5,91	2,50	17,74	312	426	0,73	36,44	Injekt. einer 68,4%igen Rohrzuckerlösung	12^{00}—2^{00}	2
5	2^{37}	5,80	2,65	17,65	324	428	0,76	36,32		2^{00}—2^{30}	61
6	2^{49}	5,26	2,76	17,27	306	438	0,70	36,2		2^{30}—3^{00}	93
										3^{00}—3^{30}	38
7	3^{34}	4,84	2,78	17,22	284	409	0,69	35,8	Nachperiode	3^{30}—4^{00}	27
8	4^{45}	5,29	2,66	17,54	297	405	0,73	35.85		4^{00}—5^{00}	23
9	7^{25}	5,19	2,61	17,47	286	408	0,70	36,1		5^{00}—6^{00}	27

Der Versuch zeichnet sich durch die vorzügliche Übereinstimmung zwischen den einzelnen Versuchen in der Vorperiode aus. Während der Zuckerinjektion steigert sich die Sauerstoffaufnahme von 406 ccm pro Kilogramm und Stunde in der Vorperiode bis auf 438 ccm bei Versuch 6, eine sicherlich reelle, aber doch nur 7,9% betragende Steigerung. Die respiratorischen Quotienten sind vielleicht etwas höher in der Injektionsperiode als vor und nach derselben; der Unterschied ist aber doch kein großer und kann auf einer zu hohen Wasserstoffionenkonzentration der Injektionsflüssigkeit beruhen. Die Harnsekretion, die in der Vorperiode so gut wie aufgehört hatte, stieg während der Injektion der Rohrzuckerlösung auf 93 ccm in 30 Minuten.

D. Versuche mit Harnstoff.

Von Versuchen mit Injektion von Harnstoff habe ich im ganzen drei angestellt. Die Deutung dieser Versuche ist indessen etwas schwer, da die starken Harnstofflösungen, die ich zur Injektion benutzte, teils leichte Zitterbewegungen der Muskeln (Versuch 17), teils eine sehr kräftige Darmperistaltik (Versuch 18) oder Hämaturie (Versuch 19) bewirkten.

Versuch 17. Kaninchen, Gewicht 2,4 kg. Von 1^h bis 2^h08 Injektion einer 6%igen Harnstofflösung. Injektionsgeschwindigkeit 48 ccm pro Stunde; im ganzen wurden 3,24 g Harnstoff injiziert.

Tabelle XVII.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen
	11. X.								
1	12^{33}	8,73	2,02	18,56	414	514	0,80	38,00	Vorversuch
2	12^{45}	8,68	2,00	18,49	407	529	0,77	38,00	
3	1^{25}	8,82	2,06	18,38	426	565	0,75	37,2	Injektion einer 6%igen Harnstofflösung
4	1^{40}	10,29	1,97	18,59	476	601	0,79	37,85	
5	1^{56}	11,68	1,80	18,79	493	625	0,79	37,82	
6	2^{35}	10,33	1,71	18,70	414	586	0,71	37,78	Nachversuch
7	4^{11}	8,38	2,09	18,30	411	554	0,74	38,2	

Die Stoffwechselsteigerung ist in diesem Versuch eine sehr bedeutende, indem die Sauerstoffaufnahme, die in der Vorperiode 522 ccm pro Kilogramm und Stunde betrug, in der Injektions-

periode bis auf 625 ccm, d. h. um 19,7 %, ansteigt. In der Nachperiode nimmt der Stoffwechsel wieder etwas ab, geht aber doch nicht so weit hinab wie in der Vorperiode. Da bei der Injektion der Harnstofflösung ein bedeutendes Zittern in den Muskeln entstand, muß man die Muskelbewegungen als eigentliche Ursache der Stoffwechselsteigerung betrachten.

Versuch 18. Dasselbe Kaninchen wie in Versuch 17, Gewicht 2,4 kg. Von $11^h 37$ bis $12^h 48$ Injektion einer 6 %igen Harnstofflösung. Injektionsgeschwindigkeit ca. 41 ccm pro Stunde; im ganzen wurden 2,46 g Harnstoff injiziert.

Tabelle XVIII.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min.	Exspirationsluft		ccm (red.) pro kg u. Stunde		$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur	Bemerkungen
		l	CO_2 %	O_2 %	CO_2	O_2		°C	
	12. X.								
1	11^{00}	7,33	2,23	18,15	384	511	0,75	37,72	Vorversuch
2	11^{12}	7,38	2,26	18,11	392	524	0,75	37,68	
3	11^{25}	7,22	2,25	18,01	382	534	0,71	37,8	
4	12^{10}	8,01	2,31	18,00	435	591	0,74	37,71	Injektion einer 6 %igen Harnstofflösung
5	12^{23}	7,77	2,31	17,98	422	579	0,73	37,6	
6	12^{36}	7,76	2,35	17,92	428	589	0.73	37,55	
7	1^{10}	8,38	2,31	17,89	455	646	0,70	37,7	Nachversuch
8	1^{48}	7,85	2,39	17,91	441	597	0,74	37,9	
9	4^{55}	6,36	2,77	17,46	414	553	0,75	38,1	

Auch in diesem Versuch steigert sich der Stoffwechsel bei der Injektion der Harnstofflösung. Die Sauerstoffaufnahme steigt von 523 ccm in der Vorperiode bis auf 591 ccm, d. h. um 13 %. In der Nachperiode nimmt der Stoffwechsel wieder etwas ab. In diesem Versuch wurden keine eigentlichen Bewegungen der quergestreiften Muskeln beobachtet; die Harnstoffinjektion ergab aber eine heftige Darmperistaltik, so daß der Unterleib des Tieres in sehr starker Bewegung war; eine derartige starke Peristaltik kann ohne Zweifel die eigentliche Ursache der Stoffwechselsteigerung sein. Eine nennenswerte Veränderung der respiratorischen Quotienten wurde weder in diesem noch in dem nachfolgenden Versuch beobachtet.

Versuch 19. Kaninchen, Gewicht 2,7 kg. Von $1^h 17$ bis $2^h 17$ Injektion einer 12 %igen Harnstofflösung. Injektionsgeschwindigkeit 50 ccm; im ganzen wurden 6 g Harnstoff injiziert.

Tabelle XIX.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C
	22. XI.							
1	12^{26}	7,55	2,31	18,11	374	486	0,77	37,7
2	12^{39}	7,96	2,29	18,04	391	529	0,74	37,68
3	12^{51}	7,93	2,29	18,13	390	507	0,74	37,7
4	1^{03}	7,53	2,33	18,10	376	486	0,77	37,7
5	1^{37}	7,16	2,47	17,89	379	498	0,76	37,6
6	1^{50}	6,84	2,52	17,77	370	496	0,75	37,6
7	2^{05}	6,45	2,60	17.48	360	515	0,70	37,6
8	2^{46}	6,09	2,51	17,72	328	450	0,73	37,55
9	4^{24}	7,70	2,52	17,81	416	550	0,76	37,6
10	5^{48}	7,37	2,37	17,87	375	520	0,72	37,7

Bemerkungen — Diurese:

Zeit	Harn ccm
12^{30}–1^{00}	16
1^{00}–1^{30}	20
1^{30}–2^{00}	50
2^{00}–2^{30}	43
2^{30}–3^{00}	25
3^{00}–4^{30}	55
4^{30}–6^{00}	53

In diesem Versuch trat Hämaturie ein; sie begann bei Versuch 7 und erreichte das Maximum bei Versuch 8, worauf sie sich vollständig verlor. Es wurden während der Injektion der Harnstofflösung keine Muskelbewegungen beobachtet. Die Sauerstoffaufnahme der Vorperiode betrug im Durchschnitt von 4 Versuchen 502 ccm pro Kilogramm und Stunde.

Während der Injektion der Harnstofflösung ist die Sauerstoffaufnahme in den 3 angestellten Versuchen praktisch die gleiche, im Durchschnitt 503 ccm. In der Nachperiode ist die Sauerstoffaufnahme am geringsten in Versuch 8 (Hämaturie). am höchsten in Versuch 9, wo die Hämaturie ganz aufgehört hat. Die durchschnittliche Sauerstoffaufnahme in der Nachperiode der 3 Versuche beträgt 507 ccm. Der Versuch führt also zu dem sonderbaren Resultat, daß eine Injektion von im ganzen 6 g Harnstoff im Laufe von 1 Stunde den Stoffwechsel nicht verändert. Auch die respiratorischen Quotienten werden in keinem nennenswerten Grade durch die Injektion beeinflußt. Die Diurese steigert sich naturgemäß während der Injektion (von ca. 16 ccm bis auf 50 ccm in 30 Minuten).

E. Versuche mit Glycerin.

Versuch 20. Kaninchen, Gewicht 2,7 kg, an demselben Tage bei Versuch 14 benutzt. Von $6^h 50$ bis $7^h 52$ Injektion einer 9,2 %igen Glycerinlösung. Injektionsgeschwindigkeit 51 ccm pro Stunde; im ganzen wurden 4,88 g Glycerin injiziert.

Tabelle XX.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen	Diurese: Zeit	Diurese: Harn ccm
	18. X.										
1	6^{24}	8,51	2,62	17,60	469	639	0,73	39,1	Vorversuch		
2	6^{37}	8,55	2,61	17,58	470	646	0,73	39,12			
3	7^{10}	8,67	2,68	17,50	489	672	0,73	39,2	Injekt. einer 9,2 %igen Glycerinlösung		
4	7^{25}	8,47	2,68	17,42	477	673	0,71	39,2		6^{00}–6^{30}	12
5	7^{40}	9,18	2,68	17,52	515	701	0,73	39,23		6^{30}–7^{00}	13
6	8^{26}	9,23	2,60	17,61	505	692	0,73	39,4	Nachversuch	7^{00}–7^{30}	13
7	9^{46}	8,60	2,78	17,53	503	653	0,77	39,6		7^{30}–8^{00}	23
										8^{00}–8^{30}	23
										8^{30}–9^{00}	13
										9^{00}–9^{30}	15

Der Versuch ergibt eine deutliche Steigerung des Stoffwechsels, indem die Sauerstoffaufnahme, die in der Vorperiode 643 ccm pro Kilogramm und Stunde beträgt, während der Injektion bis auf 701 ccm, d. h. um 9%, ansteigt, um in der Nachperiode auf 653 ccm abzufallen. Die respiratorischen Quotienten werden durch die Injektion nicht abgeändert. Wenn das Glycerin in nennenswertem Grade im Organismus verbrennte, müßte der Quotient sich steigern, indem das Glycerin bei einem Quotient = 0,86 (vollständig!) verbrennt. Die Diurese steigert sich bei der Glycerininjektion nur unbedeutend, von 13 ccm bis auf 23 ccm in 30 Minuten.

Versuch 21. Kaninchen, Gewicht 3,2 kg; wurde am vorhergehenden Tage zu Versuch 13 benutzt. Von 12^h 58 bis 2^h 02

Tabelle XXI.

Nr.	Beginn	Atemvol. in 10 Min. l	Exspirationsluft CO_2 %	Exspirationsluft O_2 %	ccm (red.) pro kg u. Stunde CO_2	ccm (red.) pro kg u. Stunde O_2	$\frac{CO_2}{O_2}$	Temperatur °C	Bemerkungen	Diurese: Zeit	Diurese: Harn ccm
	28. X.										
1	12^{31}	10,65	1,84	18,56	346	481	0,72	37,9	Vorversuch		
2	12^{43}	10,43	1,80	18,52	331	482	0,69	37,9			
3	1^{20}	10,61	1,72	18,51	322	496	0,65	39,9	Injekt. einer 9,2 %igen Glycerinlösung		
4	1^{35}	10,53	1,81	18,42	336	509	0,66	37,9		12^{00}–12^{30}	11
5	1^{50}	10,27	1,78	18,40	322	503	0,64	37,9		12^{30}–1^{00}	11
6	2^{43}	10,51	1,80	18,42	334	510	0,65	38,05	Nachversuch	1^{00}–2^{00}	70
7	5^{00}	11,53	1,62	18,70	329	496	0,66	37,92		2^{00}–3^{00}	30
										3^{00}–4^{00}	30

Injektion einer 9,2 $^0/_0$ igen Glycerinlösung. Injektionsgeschwindigkeit 52 ccm pro Stunde.

Auch in diesem Versuch steigert sich der Stoffwechsel etwas bei der Glycerininjektion, von 482 ccm Sauerstoff pro Kilogramm und Stunde bis auf 509 ccm (Versuch 4), d. h. jedoch nur um 5,6 $^0/_0$. Die respiratorischen Quotienten sind in diesem Versuch auffallend niedrig und zwar ohne nachweisbare Ursache. Die Diurese nimmt während der Glycerininjektion in diesem Versuch bedeutend stärker zu als in dem vorhergehenden Versuch, von 22 ccm bis auf 70 ccm pro Stunde.

Zusammenfassung.

In den oben mitgeteilten Versuchen sind die durch Injektion von starken hypertonischen Lösungen hervorgerufenen Abänderungen des respiratorischen Stoffwechsels dargestellt worden. Als Maß der Stoffwechselveränderung wurden die gefundenen Werte der Sauerstoffaufnahme benutzt, die ein zuverlässiges und sicheres Maß der Intensität des Stoffumsatzes abgeben. Dagegen wurde bei der Besprechung der einzelnen Versuche die Kohlensäureausscheidung in keinem nennenswerten Umfang berücksichtigt, da sie oft sogar recht beträchtlich schwanken kann, ohne daß der Stoffwechsel sich verändert zu haben braucht. Eine geringe Abänderung der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes wird sich u. a. durch eine Abnahme oder eine Zunahme der Kohlensäureausscheidung zu erkennen geben, je nachdem das Blut mehr oder weniger alkalisch ist. Namentlich in den oben besprochenen Versuchen, wo die ins Venensystem injizierte Flüssigkeit plötzlich abgeändert wird, kann dies Verhältnis eine große Rolle spielen. Wenn die zuletzt injizierte Flüssigkeit eine andere Wasserstoffionenkonzentration hat als die ursprünglich angewandte, wird dies sich sofort an der Kohlensäureausscheidung zeigen (siehe namentlich Versuch 10). Es kann somit in den Versuchen eine Abänderung der respiratorischen Quotienten auftreten, ohne daß dies zu bedeuten braucht, daß im Organismus andere Stoffe verbrennen als zuvor.

Das Gesamtresultat dieser Versuche zeigt, daß die Injektion starker hypertonischer Lösungen direkt ins Venensystem (d. h. Lösungen, deren Gefrierpunktsdepression zwischen — 1,85 und

3,70 liegt) zwar unter gewissen Verhältnissen eine Abänderung des respiratorischen Stoffwechsels ergeben kann, daß aber die Wirkung in der Regel eine recht unbedeutende ist und jedenfalls nie so hohe Werte erreicht wie die von anderen Forschern, namentlich Tangl und Verzar[1]) bei Injektion von NaCl-Lösungen gefundenen. Die von mir gefundenen Ausschläge stimmen dagegen gut überein mit den von Raeder gefundenen Stoffwechselveränderungen bei Injektion von NaCl-Lösungen verschiedener Konzentration.

Betrachten wir erst die Versuche, bei denen zur Injektion NaJ, NaBr und LiCl angewandt wurde, so finden wir eine zwischen 7,0 und 16,2 % schwankende Abnahme des Stoffwechsels (d. h. der Sauerstoffaufnahme). In Anbetracht der unzweifelhaften Giftwirkung von J, Br und namentlich Li auf den Organismus muß die Wirkung, wenn man sich der angewandten starken Konzentrationen erinnert, als eine sehr geringe bezeichnet werden. — Was die Injektion konzentrierter Lösungen von Na_2SO_4, $NaNO_3$ und Natriumphosphat betrifft, ist die Wirkung dieser Stoffe eine recht unbedeutende. Mit Ausnahme von Versuch 8 beträgt der größte Abfall der Sauerstoffaufnahme 6,3 % (Versuch 7 mit Na_2SO_4 und Versuch 10 mit Natriumphosphat). In einem Versuch (9) mit $NaNO_3$ ist die Wirkung sozusagen Null, und in einem Versuch (11) mit Natriumphosphat tritt bei der Injektion eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme von 5,3 % ein.

Während die Salzlösungen also in der Regel einen geringen Abfall des Stoffwechsels ergeben, ist das Umgekehrte der Fall, wo zur intravenösen Injektion starke hypertonische Lösungen von Rohrzucker, Harnstoff oder Glycerin angewandt wurden. Bei diesen Versuchen hat man eine Stoffwechselsteigerung, die jedoch keine nennenswerte Höhe erreicht — oder der Stoffwechsel verändert sich gar nicht. Bei der Injektion von Rohrzuckerlösungen, deren Konzentration zwischen 25 % und 68,4 % schwankt, liegt die Stoffwechselsteigerung zwischen 2,9 % und 8,7 %. Was den Harnstoff betrifft, hat Raeder schon früher gefunden, daß die Injektion einer 1 %igen Lösung dieses Stoffes in das Venensystem keine Stoffwechselsteigerung erzeugte. Zu

[1]) Diese Zeitschr. 34.

demselben Resultat kam ich bei einer Injektion einer sehr konzentrierten Lösung (12 %, einer Gefrierpunktsdepression von —3,7° entsprechend); dagegen lag in zwei Versuchen, wo eine 6 %ige Lösung von Harnstoff injiziert wurde, eine Steigerung der Sauerstoffaufnahme von bzw. 19,7 % und 13 % vor. Da in diesen Versuchen lebhafte Muskelbewegungen beobachtet wurden, ist die Stoffwechselsteigerung damit in Verbindung zu setzen. Schließlich betrug bei Glycerininjektionen (Konzentration = 9,2) die Stoffwechselsteigerung in zwei Versuchen bzw. 9 % und 5,6 %.

Fragt man nun nach den Ursachen der stattgefundenen Stoffwechselveränderungen, so war man[1]) früher auf drei Verhältnisse aufmerksam: Veränderung der Herzarbeit, Veränderung der Nierenarbeit oder Veränderung der Arbeit der Zellen (also eine Art „spezifisch-dynamische Wirkung"). Die Herzarbeit sowie die Nierenarbeit war zweifelsohne bei allen angewandten Versuchstieren gesteigert; die Herzarbeit, weil bei der Injektion starker hypertonischer Lösungen eine sehr bedeutende Vermehrung der Blutmenge stattfindet und die Nierenarbeit wegen der in den meisten Fällen enorm gesteigerten Diurese. Wenn nichtsdestoweniger bei Injektion verschiedener Salzlösungen ein geringer Stoffwechselabfall eintritt, so ist dies als eine „Giftwirkung" aufzufassen.

In den Fällen, wo der Stoffwechsel zugenommen hat, ist es denkbar, daß die injizierten Stoffe (Rohrzucker oder Glycerin) nach der Einführung in den Organismus verbrannt worden sind und dadurch eine vermehrte Sauerstoffaufnahme bewirkt haben. Da indessen keine nennenswerten Veränderungen der respiratorischen Quotienten beobachtet werden, ist es kaum wahrscheinlich, daß die Verbrennung der injizierten Stoffe die Ursache des gesteigerten Stoffwechsels ist; es ist angemessener, die geringe Stoffwechselsteigerung als durch eine Reizung der Zellen des Organismus entstanden zu betrachten; wir haben es hier also mit einer spezifisch-dynamischen Wirkung zu tun. Auf eine eingehende Erörterung dieser Wirkung werde ich späterhin zurückkommen.

---

1) Siehe Tangl und Verzar, diese Zeitschr. 34.

Über das Vorkommen und Schicksal des Cholins im Tierkörper.

Eine Methode zum Nachweis kleiner Cholinmengen.

Von

M. Guggenheim und W. Löffler.

(Aus der medizinischen Klinik der Universität und dem physiologisch-chemischen Laboratorium von F. Hoffmann-La Roche & Co., Basel.)

(Eingegangen am 3. Februar 1916.)

In einer früheren Arbeit über den biologischen Nachweis proteinogener Amine am Meerschweinchendarm[1]) verwiesen wir auf die außerordentliche Aktivitätssteigerung, die das Cholin erfährt, wenn es in sein Acetylprodukt, das Acetylcholin, übergeführt wird. Wir betonten schon damals, daß sich diese Eigenschaft verwerten läßt, um kleine Cholinmengen biologisch nachzuweisen.

Die bisher zur Bestimmung von Cholin gebrauchten Methoden beruhen auf rein chemischer Grundlage und bestehen im wesentlichen darin, daß man nach vorläufiger Isolierung der Cholinbase als Phosphorwolframsäure- oder Quecksilberverbindung diese schließlich in ein schwer lösliches charakteristisches Doppelsalz überführt (Platin-, Gold-, Cadmiumverbindung[2])

---

[1]) M. Guggenheim und W. Löffler, Biologischer Nachweis proteinogener Amine in Organextrakten und Körperflüssigkeiten. Diese Zeitschr. 72, 319, 1916.

[2]) Vgl. hierzu: F. W. Schmidt, Über Cholincadmiumchlorid. Zeitschr. f. physiolog. Chem. 53, 428, 1907. — Vladimir Stanek, Über die quantitativen Bestimmungen von Cholin und Betain in pflanzlichen Stoffen und einige Bemerkungen über Lecithine. Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 334, 1906; 54, 354, 1908. — A. Kiesel, Versuche mit dem Staneksehen Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Cholins. Zeitschr. f. physiol. Chem. 53, 215, 1907. — E. Schulze, Über die zur Dar-

und zur Wägung bringt. Verfahren dieser Art sind jedoch sehr umständlich und lassen sich beim Nachweis kleiner und kleinster Cholinmengen kaum mit Sicherheit anwenden.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß sich Cholin als Acetylcholin mittels des überlebenden Meerschweinchendarmes noch in sehr geringen Mengen 0,0000001 g bequem erkennen läßt, versuchten wir, wie weit sich diese Tatsache benutzen läßt, um Cholin in Körperflüssigkeiten verschiedener Art nachzuweisen, eine Aufgabe, die im Hinblick auf die keineswegs geklärte Rolle des Cholins in der Physiologie und Pathologie des Stoffwechsels ein erhebliches Interesse beansprucht.

Wir stellten nun zunächst fest, wie weit die Empfindlichkeit dieses Cholinnachweises noch bestehen bleibt, wenn das Cholin nicht in rein wässeriger Lösung, sondern in Harn oder Serum enthalten ist. Dabei wurde zweckmäßig in folgender Weise verfahren:

1 bis 2 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit (stark eiweißhaltige Flüssigkeiten, Blut und Serum werden zweckmäßig vorher enteiweißt und konzentriert) werden in einem dickwandigen Reagensglas mit so viel Glas- oder Quarzsand versetzt, daß die ganze Flüssigkeitsmenge aufgesaugt wird. Die Röhrchen werden im Trockenschrank längere Zeit bei 100°, schließlich im Vakuumexsiccator sorgfältig getrocknet. Am einfachsten gestaltet sich das Trocknen bei Anwendung eines Vakuumtrockenschrankes. Die Temperatur braucht dann 30 bis 40° nicht zu übersteigen. Etwas umständlicher gestaltet sich folgendes Verfahren: Die zu untersuchende Flüssigkeit wird in einem Schälchen zur Trockne gedampft, der Rückstand mit Alkohol extrahiert, der Alkohol in einem Reagensglas auf dem Dampfbad unter Anwendung eines Siedesteinchens abgedunstet und die Trocknung des Röhrcheninhaltes in einem Exsiccator vervollständigt.

Die in der einen oder anderen Weise vorbereiteten, völlig trockenen Röhrchen werden mittels eines Capillartrichterchens mit 1 ccm Acetylchlorid versetzt und in der bei Einschmelzröhren üblichen Weise zugeschmolzen. Das Erhitzen im Wasserbad geschieht am besten in der Weise, daß man die Röhrchen einzeln in ein Tuch einschlägt und in einem gedeckten Wasserbad eine Stunde bei 100° hält. Bei sorgfältigem Einschmelzen ist ein Platzen der Röhrchen leicht zu vermeiden.

Nach vollständigem Erkalten des Wasserbades werden die Röhrchen

---

stellung von Cholin, Betain und Triponellin aus Pflanzen verwendbaren Methoden und über die quantitative Bestimmung dieser Basen. Zeitschr. f. physiol. Chem. **60**, 155, 1909. — M. Kaufmann und D. Vorländer, Über den Nachweis des Cholins nebst Beiträgen zur Kenntnis des Trimethylamins. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **43**, 2735 bis 2743, 1910.

herausgenommen, vorsichtig aufgeschmolzen oder mit einer Beißzange abgeklemmt und das überschüssige Acetylchlorid im Wasserbad abgedunstet. Nach dem Erkalten wird der Röhrcheninhalt mit Wasser aufgenommen, mit Sodalösung neutralisiert und die Flüssigkeit je nach dem zu erwartenden Cholingehalt auf 10 bis 100 ccm verdünnt. Diese Lösung kann ohne weiteres am Darm geprüft werden.

Auf diese Weise konnten in Serum, Harn und in der Cerebrospinalflüssigkeit stets kleine Cholinmengen nachgewiesen werden. Daß es sich bei dieser darmaktiven Substanz tatsächlich um Acetylcholin handelt, ergab sich aus deren Verhalten gegen Alkali. Läßt man das Acetylprodukt einige Zeit in alkalischer Lösung stehen, so findet eine Verseifung und Inaktivierung statt, wie dies für Acetylcholin bereits festgestellt ist[1]). Ebenso zeigte das aus Harn und Blut erhaltene Acetylprodukt für Acetylcholin typische Wirkung auf den Rattenuterus und auf den Blutdruck des Kaninchens. Wir überzeugten uns ferner, daß Lösungen von Harnstoff und von Aminoäthylalkohol bei analoger Behandlung keine „darmaktiven" Substanzen liefern. Auch die Acetylprodukte von Aminosäuren sind ohne Wirkung. Die Aktivität der acetylierten Körperflüssigkeiten darf daher unbedenklich auf die Anwesenheit von Cholin zurückgeführt werden.

Zur Cholinbestimmung im Harn verwendeten wir 1 bis 10 ccm des Tagesharnes. Das erhaltene Acetylprodukt wurde in der Regel auf 100 ccm verdünnt und diese Lösung zur Prüfung verwendet. 1 ccm dieser Lösung entsprach also 0,01 bzw. 0,1 ccm des ursprünglichen Harnes. Von dieser Lösung brauchte es bei den verschiedenen geprüften normalen und pathologischen Harnen verschiedene Quantitäten, um die Grenzdosis zu erreichen, meistens Mengen, die 0,01 bis 0,5 ccm ursprünglichem Harn entsprachen.

Die ermittelten Grenzwerte gestatten, mit einiger Annäherung Schlüsse auf den Cholingehalt des Harnes zu ziehen. Durch wiederholte Bestimmung war festgestellt worden, daß 0,0000001 g Cholin bei der Acetylierung die Grenzdosis für den in 100 ccm Ringer suspendierten Meerschweinchendarm bildeten. 0,01 bis 0,5 ccm Harn enthalten also diese Cholin-

[1]) Guggenheim, Beitrag zur Kenntnis des wirksamen Prinzips der Hypophyse. Diese Zeitschr. 65, 215, 1915.

menge. 1 l Harn enthält demnach 0,0002 bis 0,01 g Cholinchlorhydrat. Wodurch die ziemlich weitgehenden Differenzen bedingt sind, haben wir bis jetzt noch nicht näher untersucht. Neben individuellen Schwankungen spielt selbstverständlich auch die Zusammensetzung der Nahrung eine Rolle.

Die Cholinbestimmung im Blut und Serum lieferte ein ähnliches Resultat. Die Schwankungen sind jedoch etwas weniger groß. Die Minimaldosis wurde hier mit 0,005 bis 0,05 ccm Serum erreicht. In ähnlichen Grenzen bewegt sich der Cholingehalt der Cerebrospinalflüssigkeit, Minimaldosis 0,05 bis 0,01 ccm. Von den geprüften Cerebrospinalflüssigkeiten entstammten einige von Patienten mit Lues cerebrospinalis und Tabes dorsalis. Diese zeigten gegenüber normalen Cerebrospinalflüssigkeiten wohl einen etwas erhöhten Cholingehalt. Doch sind die beobachteten Fälle zu wenig zahlreich und die Unterschiede nicht so eklatant, um daraus auf einen abnormen Cholingehalt (Lecithinzerfall) bei diesen Krankheiten schließen zu lassen, wie dies Halliburton[1]) und Rosenheim[2]) annahmen.

Nach den bisherigen Versuchen haben wir also weder im Harn noch im Serum oder in der Cerebrospinalflüssigkeit bei verschiedenen Krankheiten Cholinwerte feststellen können, die sich deutlich von denen der normalen Körperflüssigkeiten unterschieden. Daß mit unserer Methode einigermaßen beträchtliche Schwankungen des Cholingehaltes nachweisbar sind, wurde dadurch dargetan, daß sich ein Zusatz von z. B. 0,01 g Cholinbromhydrat zu 100 ccm Blut deutlich zu erkennen gab.

Inzwischen unternahmen wir es, unsere Methode zu benützen, um über das noch keineswegs völlig geklärte Schicksal des Cholins im Organismus näheren Aufschluß zu erhalten. Die Veränderungen des Cholins im Tierkörper sind schon Gegenstand verschiedener Untersuchungen geworden. Die naheliegende

---

[1]) Halliburton und Mott, Die Chemie der Nervendegeneration. Journ. of the chem. Soc. 80, II. Ref., 260, 1901.

[2]) Rosenheim, Otto, Cholin in der Cerebrospinalflüssigkeit. Journ. of Physiol. 35, 465 bis 472, 1907; vgl. hierzu auch Max Kaufmann, Über das angebliche Vorkommen von Cholin in pathologischer Lumbalflüssigkeit. Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 343, 1910. Über den Befund von Cholin im Ochsengehirn. Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 175, 1910.

Vermutung, daß das Cholin durch Oxydation in Betain übergeführt wird, die in dem sehr häufigen gleichzeitigen Vorkommen von Cholin und Betain biologisch eine Stütze hat, ist durch keine einwandfreie Untersuchung erwiesen. Rießer[1]) vermutet, daß das Cholin in Kreatinin übergeführt wird, indem es einerseits eine Entmethylierung am Stickstoff, andererseits eine Oxydation an der Carbinolgruppe erleidet. Es erklärt sich die Umwandlung des Cholins in Betain durch folgende Gleichungen:

$$\begin{array}{l} (CH_3)_3\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{N}}.CH_2.CH_2OH + CO(NH_2)_2 = C\begin{cases} NH_2 \\ =NH \\ \underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{N}}.CH_2.CH_2.OH \end{cases} + 2\,CH_3OH \end{array}$$

$$\begin{array}{l} NH_2-C=NH \\ \quad \diagdown \\ \quad N(CH_3)-CH_2.CH_2OH + O_2 = NH_2-C=NH \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad N(CH_3)-CH_2.COOH. \end{array}$$

Von weiteren Untersuchungen über die chemische Umwandlung von Cholin erwähnen wir die Arbeit von Patta[2]), der den Trimethylamingehalt des Harnes nach subcutaner und oraler Verabreichung von Lecithin untersuchte, und da er ihn kaum vermehrt fand, schließt, daß im Organismus keine nennenswerte Abspaltung von Trimethylamin aus Cholin stattfindet.

Bei der Untersuchung benützten wir im wesentlichen die gleiche Methodik, die wir zur Aufklärung des Schicksals anderer proteinogener Amine angewendet haben[3]). Wir bestimmten mittels der Darmmethodik die Aktivität von Harn und Serum der Versuchstiere nach subcutaner

---

[1]) Otto Rießer, Theoretisches und Experimentelles zur Frage der Kreatinbildung im tierischen Organismus. Versuche über Kreatinbildung aus Betain und Cholin. Zeitschr. f. physiol. Chem. **86**, 415 bis 453, 1913; ferner: „Weitere Beiträge zur Frage der Kreatinbildung aus Cholin und Betain“. Zeitschr. f. physiol. Chem. **90**, 221 bis 233, 1914.

[2]) Aldo Patta, Beitrag zum Studium des Abbaues der Lecithine und des Cholins. Über das Vorkommen von Trimethylamin im Harn. Arch. di farm. spec. **18**, 284 bis 288, 1914.

[3]) M. Guggenheim und W. Löffler, Das Schicksal proteinogener Amine im Tierkörper. Diese Zeitschr. **72**, 325, 1916.

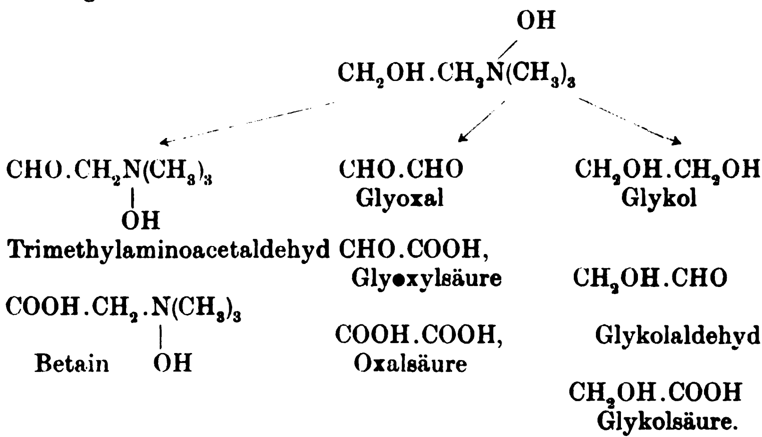
und intravenöser Eingabe von Cholin, nachdem die zu untersuchenden Flüssigkeiten in der oben angegebenen Weise acetyliert worden waren.

Ein Kaninchen von 1,595 kg erhält während 18 Tagen 2,2 g Cholin subcutan in täglichen Dosen von 0,15 bis 0,25 g. Vom Tagesharn (20 bis 100 ccm) wurde jeweils 1 ccm acetyliert und das Acetylierungsprodukt auf 100 ccm verdünnt. Hiervon ergaben 5 bis 10 ccm entsprechend 0,05 bis 0,10 ccm Harn eine minimale Wirkung am Meerschweinchendarm. Dies bedeutet gegenüber normalem Kaninchenharn kaum eine Steigerung des Cholingehaltes. Wäre das verabreichte Cholin nur zum Teil ausgeschieden worden, so hätte der Harn eine weit größere Aktivität zeigen müssen. Es darf somit aus diesem Versuch geschlossen werden, daß subcutan verabreichtes Cholin nicht unverändert ausgeschieden wird, sondern im Organismus entweder gespeichert oder verändert wird.

Ein etwas anderes Resultat wurde nach intravenöser Zufuhr von Cholin erhalten. Einem Kaninchen von 3300 g wurden innerhalb ca. 4 Stunden 0,5 g Cholinchlorhydrat in 1 $^0/_0$ iger Lösung infundiert. Während der Infusion wurde dem Tier in Intervallen von je einer halben Stunde Blut entnommen und in diesem, sowie in dem reichlich abgesonderten Speichel das Cholin bestimmt. Der Cholingehalt des während der Infusion entnommenen Blutes war bedeutend höher als beim Normalblut. 0,002 ccm von letzterem enthielten ungefähr dieselbe Cholindosis (Minimaldosis) wie 0,1 ccm Normalblut, und zwar bestand dieser Cholingehalt während der ganzen Infusionsperiode. Der Speichel zeigte sich sehr wenig aktiv. Diese Erhöhung des Cholingehaltes entspricht jedoch bei Annahme von 200 ccm Blut höchstens 0,01 g Cholin, also nur einem geringen Bruchteil der infundierten Menge. Der Rest ist während der Infusion kontinuierlich aus dem Kreislauf entfernt worden, sei es durch Speicherung in den Geweben, sei es durch Umwandlung. Auch der am Versuchstage gelassene Harn (78 ccm 3^h mittags und 37 ccm 6^h abends) zeigte eine deutlich erhöhte Wirksamkeit; Minimaldosis: 0,001 ccm bei ersterem, 0,005 ccm bei letzterem gegenüber 0,05 ccm im Harn vor dem Versuch. Der in der Nacht nach dem Versuch ge-

lassene Harn (130 ccm) besaß jedoch bereits wieder normale Wirksamkeit (Minimaldosis 0,05 ccm). Da nach diesen Werten die gesamte im Harn ausgeschiedene Cholinmenge 8 mg nicht übersteigt, so ergibt sich, daß auch bei intravenöser Infusion des Cholins der weitaus größte Teil nicht als solches im Harn ausgeschieden wird.

Diese Resultate legten die Vermutung nahe, daß das Cholin im Organismus einen oxydativen Abbau erleidet, sei es, daß primär eine Desamidierung stattfindet, sei es, daß zuerst die Carbinolgruppe oxydiert wird, oder daß beides zusammen eintritt. Dabei kommt die Bildung folgender Oxydationsprodukte in Frage:



Wie auch immer die Oxydation verlaufen mag, sie müßte sich im biologischen Versuch in einer Verminderung der Aktivität zu erkennen geben. Da die Leber in hervorragendem Maße an der Oxydation der primären Amine beteiligt ist, glaubten wir auch, über das Schicksal des Cholins am ehesten durch Perfusion der überlebenden Leber Aufschluß zu erhalten.

Wir durchströmten die Leber eines 4,2 kg schweren Kaninchens während $3^1/_2$ Stunden mit 2 l Ringerlösung, der 1,0 g Cholinchlorhydrat zugesetzt worden war. Die biologische Prüfung der Durchströmungsflüssigkeit nach der Perfusion ergab eine sehr starke Wirksamkeit, die kaum schwächer war als die einer $0,5\,^0/_{00}$igen Cholinchlorhydratlösung.

Dies bedeutet, daß das zugesetzte Cholin fast unverändert in der Perfusionsflüssigkeit enthalten war. Es gelang auch

ohne große Schwierigkeit, einen erheblichen Teil als Pt-Verbindung zu isolieren. Zu diesem Zwecke wurde die Perfusionsflüssigkeit enteiweißt, zur Sirupdicke konzentriert und mit Alkohol ausgekocht. Die konzentrierten alkoholischen Extrakte wurden hierauf mit $HgCl_2$ übersättigt und die nach 24 Stunden abgeschiedene Quecksilberverbindung mit H_2S zersetzt. Die von H_2S befreiten Filtrate wurden zum Sirup konzentriert und dieser mit absolutem Alkohol ausgezogen, der Alkohol abgedampft und der Rückstand abermals mit absolutem Alkohol aufgenommen und filtriert. Die konzentrierte alkoholische Lösung wurde schließlich mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt, worauf sich 1,2 g des charakteristischen Pt-Salzes des Cholins abschieden.

Nach den in vorstehendem Perfusionsversuch enthaltenen Resultaten scheint also die überlebende Leber Cholin nur in beschränktem Maße, wenn überhaupt, zu verändern. Ein weiterer Versuch, in dem wir nur eine geringe Menge Cholin (0,030 g) durch die überlebende Leber strömen ließen, zeigte jedoch, daß sie in der Tat imstande ist, eine geringe Menge von Cholin so zu verändern, daß die Aktivität der Lösung abnimmt Während der $3^1/_2$ Stunden dauernden Perfusion wurden 10 Proben zu je 10 ccm genommen und diese nach Acetylierung untereinander verglichen. Es zeigte sich, daß die am Schlusse des Versuchs entnommene Probe 10 ungefähr $^1/_2$ mal so wirksam ist als die zu Anfang abgetrennte Probe 1. Am deutlichsten gibt sich diese Abschwächung zu erkennen, wenn man zur Prüfung die sog. Superpositionsmethode anwendet[1]). Bewirkt man durch 0,05 ccm der Probe I eine deutliche Contraction des Darmes, so vermag man durch Zusatz von 0,05 ccm der Probe X den Tonus des Darmstückes kaum zu verändern, wohl aber bewirkt Probe I an dem mit Probe X vorbehandelten Darm eine deutliche weitere Tonussteigerung. Schätzungsweise dürfte die Probe X kaum halb so wirksam sein wie Probe I. Danach wäre durch die $3^1/_2$ stündige Perfusion nur ca. 10 bis 15 mg des Cholins verändert worden.

Die große Resistenz verdankt das Cholin offenbar dem Vorhandensein einer trimethylierten Aminogruppe. Schon

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 72, 349, 1916.

Ewins und Laidlaw[1]) hatten festgestellt, daß die methylierten Derivate des p-Oxyphenyläthylamins, das p-Oxyphenyläthylmethylamin und p-Oxyphenyläthyldimethylamin (Hordenin), an der überlebenden Leber bedeutend weniger oxydiert werden als das p-Oxyphenyläthylamin.

Beim Cholin liegen die Verhältnisse offenbar ähnlich. Wenigstens scheint nach einem vorläufigen Durchströmungsversuch die dem Cholin zugrunde liegende nichtmethylierte Base, des Äthanolamin (Colamin) vollständig oxydiert zu werden, so daß es nicht mehr als Pikrolonat nachweisbar ist.

Da nach subcutaner Injektion von Cholin der Cholingehalt des Harnes nicht ansteigt und nach intravenöser Zufuhr nur unwesentlich vermehrt ist, muß geschlossen werden, daß das Cholin den Organismus nicht unverändert passiert. Eine Oxydation zu Betain, wie wir sie vermuteten, scheint nach den Perfusionsversuchen nur in geringem Maße stattzufinden. Es bleibt zwar nicht ausgeschlossen, daß andere Organe diese oder eine ähnliche oxydative Veränderung des Cholins bewirken können. Schließlich bleibt die Möglichkeit, daß das Cholin in gewissen Organen (Haut, Ovarien, Nebennieren) gespeichert wird, wie dies Ph. Ellinger[2]) festgestellt hat.

Unsere biologische Cholinbestimmungsmethode läßt sich auch zum Nachweis von Lecithin verwerten, indem man das aus diesem durch Hydrolyse abspaltbare Cholin[3]) als Acetylcholin bestimmt und aus den so ermittelten Cholinwerten das Lecithin berechnet. Bringt man 1 g käufliches Ovo-Lecithin in ätherische Lösung und extrahiert diese mit angesäuertem Wasser, so läßt sich im wässerigen Extrakt stets eine geringe Cholinmenge nachweisen, die etwa 0,01 g entspricht. Dieses Cholin ist dem Lecithin offenbar als Verunreinigung beigemischt. Es läßt sich durch anhaltendes Waschen mit ange-

---

[1]) Dale & Laidlaw, Das Schicksal von p-Oxyphenyläthylamin im Organismus. Journ. of Physiol. **41**, 78, 1910.

[2]) Ph. Ellinger, Über die Verteilung des injizierten Cholins im Organismus. Münch. med. Wochenschr. **1914**.

[3]) Vgl. Hugh McLean, Weitere Versuche zur quantitativen Gewinnung von Cholin aus Lecithin. Zeitschr. f. physiol. Chem. **55**, 360, 1908. — G. Moruzzi, Versuche zur Gewinnung von Cholin und Lecithin. Zeitschr. f. physiol. Chem. **55**, 352, 1908.

säuertem Wasser dem Lecithin entziehen, so daß man schließlich nach etwa 20maligem Auswaschen ein Lecithinpräparat erhält, das an Wasser keine nachweisbaren Mengen von Cholin mehr abgibt.

Dieses cholinfreie Lecithin läßt sich zu Versuchen verwenden, bei denen eine partielle oder totale Phosphatidspaltung in Frage kommt. Von Interesse scheint uns namentlich ein Studium des Lecithinzerfalles unter dem Einfluß der Strahlenwirkung (Röntgen, Radium). Schwarz und nach ihm Werner[1]) und verschiedene Autoren haben bekanntlich die Vermutung ausgesprochen, daß die Strahlenwirkung, sei es primär durch direkte Einwirkung auf Lecithin, sei es sekundär, durch Aktivierung von Lecithin spaltenden Fermenten, eine Abspaltung von Cholin hervorruft. Unsere hierauf gerichteten Versuche haben bis jetzt ein vollständig negatives Resultat ergeben. Wir bestrahlten wässerige (1 $^0/_0$ige) Suspensionen von cholinfreiem Lecithin mit großen Dosen von harten und weichen Röntgenstrahlen. Aus der bestrahlten Suspension entfernten wir nach Ansäuern das Lecithin mit Äther und bestimmten im Rückstand der wässerigen Lösung das Cholin mittels unserer Methode. Es ließ sich keine Spur von Acetylcholin nachweisen. Bei der außerordentlich großen Empfindlichkeit unserer Methode darf geschlossen werden, daß unter diesen Bedingungen keine Abspaltung von Cholin aus dem Lecithin stattfindet.

Ein ähnliches Resultat gab die Bestrahlung eines frischen Hühnereis. Zwischen dem Cholingehalt eines bestrahlten und eines unbestrahlten Eigelbs zeigten sich keine nachweisbaren Differenzen. Über diese Beobachtungen im Zusammenhang mit weiteren Untersuchungen über den Einfluß der Strahlenwirkung auf die Abspaltung von Cholin aus Lecithin wird Herr Gäwiler in einer Dissertation berichten.

Zusammenfassung.

Die Überführung von Cholin in Acetylcholin gestattet den Nachweis sehr kleiner Cholinmengen. Zur Bestimmung des Acetylcholins eignet sich am besten der überlebende Meer-

[1]) R. Werner, Experimentelle Beiträge zur Chemotherapie der malignen Geschwülste. Zeitschr. f. Chemotherap. 1, 357 bis 405, 1913.

schweinchendarm. An diesem Testobjekt können noch 0,0000001 g Cholin erkannt werden.

Auch in Harn, Blut und Cerebrospinalflüssigkeit läßt sich das Cholin mit dieser Methode bestimmen. Ein Liter Harn enthält 0,002 bis 0,01 g Cholinchlorhydrat, ein Liter Serum 0,002 bis 0,02 g.

Bei verschiedenen Krankheiten ließen sich in den Körperflüssigkeiten bisher keine charakteristischen Schwankungen des Cholingehaltes ermitteln.

Subcutane Verabreichung größerer Cholinmengen erhöht den Cholingehalt des Harns nicht merkbar.

Intravenöse Injektion von Cholin bewirkt eine vorübergehende Steigerung des Cholingehalts von Blut und Harn. Der größte Teil des Cholins wird jedoch nicht im Harn ausgeschieden.

Die überlebende Leber vermag das Cholin nur in ganz beschränktem Maße zu verändern.

Käufliches Ovolecithin enthält geringe Mengen von Cholin.

Aus Ovolecithin wird durch intensive Röntgenbestrahlung kein Cholin abgespalten.

Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Problemen der Biologie und Kolloidchemie.

(Mit besonderer Berücksichtigung der Blutgerinnungsfrage.)

Von

E. Hekma.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 15. Februar 1916.)

IX.

Weiteres über Natur und Eigenschaften der „kolloiden Lösungen" des Fibrins.

Gesetzt, es stellte das Fibringel eine ganz reine Masse dieses Eiweißkörpers dar[1]), so könnte man das gewaschene, wasserfeuchte Gel als ein System: Fibrin-Wasser und das entsprechende Alkalihydrosol als ein System: Fibrin-Alkali-Wasser betrachten. Wird die wasserfeuchte Fibrinfasermasse an der Luft getrocknet, dann pulverisiert und das Pulver in Wasser verteilt, so hätte man es ebenfalls mit einem System Fibrin-Wasser, in diesem Falle jedoch mit einer wahren Suspension zu tun. In Anbetracht der räumlichen Verhältnisse könnte man die wasserfeuchte Fibrinfädchenmasse als Ganzes ja ein

[1]) Das trifft nicht ganz zu, denn das Fibringel kann zwar relativ, jedoch nicht absolut rein erhalten werden. Auch dann nicht, wenn es aus einem künstlichen Fibrinalkalihydrosol oder „Fibrinsalzalkalihydrosol" (Hammarstensche Gerinnungsflüssigkeit) gewonnen worden ist. Abgesehen noch von den eventuell von dem gelbildenden Reagens (z. B. Serum) herrührenden Verunreinigungen, bleiben Elektrolytenspuren in dem Gel bzw. in der Fibrinsubstanz zurück, wie in einem vorhergehenden Aufsatz erörtert worden ist.

Fibrinhydrogel und die soeben erwähnte Suspension ein Fibrinhydrosol nennen. Der Unterschied zwischen dem Fibrinhydrogel und dem besagten Fibrinhydrosol wäre nur der, daß im letzteren Falle der Dispersitätsgrad der „festen Phase“ ein größerer wäre, so daß man hier von einem dispersen System mit fester disperser Phase sprechen könnte.

Nun werden die Verhältnisse dadurch etwas getrübt, daß das trockene Fibrinpulver, nachdem es in Wasser übertragen worden ist (und dasselbe gilt für die ganze trockene Fibrinmasse) unter Wasseraufnahme zu halbfesten Teilchen aufquillt, und zwar zweifellos namentlich infolge des Elektrolytgehaltes der Fibrinsubstanz. Es verwandelt sich die Suspension mit festen Teilchen bzw. das System mit fester disperser Phase also in eine Suspension mit halbfesten Teilchen bzw. in ein System mit halbfester disperser Phase. Weitere Veränderungen treten in dem System nicht ein.

Nehmen wir an, das lufttrockene Fibrin ließe sich dermaßen in Wasser verteilen, daß es in seine Bausteine, die länglichen Mikronen und Ultramikronen, auseinanderfallen würde, so hätten wir es immer noch mit einem System mit fester (und nach der Wässerung mit halbfester) disperser Phase und in beiden Fällen mit einer wahren Suspension zu tun. Und dasselbe würde zutreffen, wenn sich das Fibrin so fein in Wasser verteilen ließe, daß sogar die länglichen Ultramikronen in amikroskopische Molekelkomplexe zerfallen würden. Man könnte dann den Eindruck bekommen, eine „wahre homogene Lösung“ vor sich zu haben, während es sich tatsächlich um ein hoch disperses System mit fester (bzw. halbfester) disperser Phase, bzw. um eine Suspension mit amikroskopischen festen (halbfesten) Fibrinteilchen handeln würde. Man könnte dementsprechend geneigt sein, in diesen Verhältnissen ein Argument für die Suspensionstheorie der „kolloiden Lösungen“ im allgemeinen zu erblicken.

Wenn einer wäßrigen Fibrinsuspension mit makroskopisch oder mikroskopisch sichtbaren Teilchen eine Spur Alkali (oder Säure) hinzugesetzt wird, so werden die Fibrinteilchen, wie sich auf direktem Wege wahrnehmen läßt, in einen zunehmenden Quellungszustand versetzt. Man könnte in diesem Falle von einem dispersen System mit halbflüssiger disperser Phase,

bzw. von einer Suspension mit makro- bzw. mikroskopischen halbflüssigen Fibrinteilchen sprechen.

Würde der soeben vorausgesetzten Suspension mit festen bzw. halbfesten Mikronen und Ultramikronen oder gar Amikronen eine Spur Alkali (oder Säure) hinzugegeben werden, so würde ein ähnlicher Vorgang stattfinden und ein ähnliches Resultat erreicht werden wie oben erwähnt: es würde eine Suspension mit stark gequollenen, halbflüssigen Mikronen, Ultramikronen und Amikronen gebildet werden. So wie in dem vorerwähnten Fall die Fibrinteilchen schließlich in einen derart starken Quellungs- und Dispersitätsgrad übergehen, daß eine optisch leere Flüssigkeit entsteht, daß man von flüssigen Teilchen sprechen kann, so würden diese Verhältnisse in dem zuletzt erwähnten hypothetisch angeführten Fall nicht anders sein. In beiden Fällen handelt es sich um eine Suspension mit gequollenen bzw. flüssigen Fibrinteilchen, bzw. um ein disperses System mit stark gequollener, flüssiger disperser Phase. Es lassen sich somit allerhand Übergangsstufen denken, die ineinanderfließen. Wenn man auch die erwähnten Systeme mit halbflüssiger oder flüssiger, bzw. mit weniger oder stärker gequollener disperser Phase in die Kategorie der „Emulsionen" einreihen könnte (wo doch die gequollenen Fibrinteilchen sich in dem „Dispersionsmittel" gewissermaßen in Form von Tröpfchen vorfinden müssen), so würde man sie doch andererseits mit ebensoviel Recht als Suspensionen mit gequollenen bzw. halbflüssigen oder flüssigen Fibrinteilchen bezeichnen können. Es würde somit die Suspensionstheorie der „kolloiden Lösungen" angesichts der bei dem Fibrin vorliegenden Verhältnisse aufrecht erhalten werden können.

Ob man nun solche Flüssigkeiten Emulsoide, Suspensoide, Pseudosuspensionen, Pseudolösungen usw. nennen will, ist, wie mir scheint, am Ende ziemlich gleichgültig. Von wesentlichem Belang ist aber die Tatsache, daß die erwähnten dispersen Systeme mit gequollener bzw. halbflüssiger oder flüssiger disperser Phase Flüssigkeiten darstellen, die einerseits von einer wahren Lösung irgendeines krystalloiden Körpers und andererseits von den vorerwähnten dispersen Systemen mit fester bzw. halbfester disperser Phase als grundverschieden betrachtet werden müssen.

Nun möchte ich nicht versäumen zu erwähnen, daß das lufttrockene Fibrin sich, soweit meine Erfahrung reicht, praktisch nicht so fein verteilen läßt, um eine wäßrige Suspension mit nur ultramikroskopisch oder gar amikroskopisch festen Teilchen herstellen zu können, geschweige um ein Auseinanderfallen in die ursprünglichen Bausteine zu bewirken. Es läßt sich dementsprechend auf diesem Wege praktisch auch nicht ein disperses System mit solchen gequollenen Fibrinteilchen, die den Ultramikronen und Amikronen entsprechen würden, darstellen.

Aber das dürfte die vorstehend entwickelte Vorstellungsweise nicht beeinträchtigen. Denn was sich in diesem Falle nicht auf direktem Wege machen läßt, kann auf andere Weise erreicht werden.

Es gestalten sich die Verhältnisse nämlich folgendermaßen. Wenn man das lufttrockene Fibrin noch so fein pulverisiert, so bekommt man in der wäßrigen Suspension nur „amorphe“ Teilchen zu Gesicht. Setzt man zu einer möglichst feinen wäßrigen Suspension eine Spur Alkali (oder Säure) auf das mikroskopische Präparat, so werden die Teilchen bald mehr oder weniger durchsichtig, um dann in einen nicht mehr mikro- bzw. ultramikroskopisch wahrnehmbaren Zustand überzugehen. Da kaum angenommen werden darf, daß die Teilchen als solche sich verflüssigen, müssen wir zu dem Schluß gelangen, daß die weitere Quellung und der weitere Zerfall (bzw. die Erhöhung des Dispersitätsgrades) Hand in Hand gehen. Daß tatsächlich bei dieser Solbildung der Dispersitätsgrad bedeutend erhöht worden ist, geht aus der folgenden Tatsache hervor. Saugt man nämlich unter dem Deckglas eine gesättigte Fluornatriumlösung oder Blutserum an, so gelangt das Fibrin wieder zur Ausscheidung, und zwar zunächst in Form von länglichen Ultramikronen und Mikronen[1]).

Bringt man in ein Reagensglas einer so groben wäßrigen Fibrinpulversuspension, daß die Teilchen makroskopisch wahr-

---

[1]) Das gilt sowohl, wenn Säure, als auch wenn Alkali für die Herstellung des Sols verwendet worden ist. Ich möchte nochmals darauf hinweisen, daß von Blutserum in künstlichen Fibrinsäurehydrosolen sogar bedeutend raschere Fibrinausscheidung erzeugt zu werden pflegt als in Fibrinalkalihydrosolen.

nehmbar sind, eine Spur Alkali (oder Säure) hinzu, so sieht man die Teilchen aufquellen. Sie ballen sich dann gewöhnlich zunächst zu größeren Konglomeraten zusammen, offenbar infolge des Umstandes, daß die Fibrinteilchen bei der unter Alkali- oder Säureeinfluß stattfindenden Quellung klebrig werden. Die gequollenen konglomerierten Teilchen werden dann immer durchsichtiger, um dann in Verquellung bzw. Verflüssigung bzw. Alkali-(oder Säure-)hydrosolzustand, überzugehen.

Auch hier fallen offenbar die weitere Quellung und die feinere Verteilung (bzw. die Erhöhung des Dispersitätsgrades) zeitlich zusammen. Und dasselbe ist ja der Fall beim Übergang in den Solzustand des unter Alkali-(oder Säure-)einfluß stark gequollenen Fibringels als Ganzes. Das Endresultat ist in sämtlichen Fällen die Bildung einer optisch leeren Flüssigkeit bzw. eines dispersen Systems mit flüssiger, d. h. gequollener disperser Phase bzw. eines Fibrin- (oder Säure-) alkalihydrosols aus einer trockenen Fibrinmasse.

Es ist hier also, was sich leicht nachweisen läßt, auf anderem Wege dasselbe Resultat erreicht worden wie in der zuvor skizzierten Weise; man hätte zuerst eine wäßrige Suspension der trockenen Mikronen, Ultramikronen und Amikronen herstellen können, um dann eine solche Suspension durch Alkali- (bzw. Säure-) zusatz sich in ein disperses System mit stark gequollener disperser Phase verwandeln zu lassen. Denn wird das in Rede stehende System mit gequollener disperser Phase, d. h. das Fibrinalkali- (oder Säure-) hydrosol, gleichgültig ob bei seiner Herstellung die trockene Fibrinfädchenmasse als ganze, im grob oder fein pulverisierten Zustande als Ausgangsmaterial verwendet worden ist, mit irgendeinem fibrinausscheidenden Reagens, z. B. einer gesättigten Fluornatriumlösung, Blutserum oder etwa Wasser im Übermaß versetzt, so gelangt das Fibrin dabei zunächst wieder in Form der typischen länglichen Ultramikronen und Mikronen zur Ausscheidung.

Wir können somit mit gutem Grund annehmen, daß bei der Quellung und Solbildung unter Alkalieinfluß (und dasselbe gilt cet. parib. bei der unter Säureeinfluß) in umgekehrter Richtung dieselben Stadien durchlaufen werden wie bei der Gelbildung in einem Fibrinalkali- (bzw. Säure-) hydrosol unter dem Einfluß von Reagenzien. D. h. also, während die z. B. in einem

Fibrinalkalihydrosol sich im gequollenen Zustande vorfindenden Fibrinmolekelkomplexe unter der Einwirkung von Reagenzien (schwache Säure, gesättigte Neutralsalzlösungen, Serum, das Schmidtsche Reagens, Wasser im Übermaß usw.) entquellen und zunächst in Form von länglichen Ultramikronen und Mikronen zur Ausscheidung gelangen, werden umgekehrt bei der Quellung unter Alkalieinfluß jene Bausteine des Gels in Quellung versetzt, indem ihr Zusammenhang zugleich ein lockerer, bzw. ihr Dispersitätsgrad ein höherer wird. Dabei wird der Quellungs- und der Dispersitätsgrad der jedes Fädchen bildenden Bausteine bzw. Fibrinmolekelkomplexe schließlich ein so hoher, daß eine optisch leere Flüssigkeit, ein disperses System mit gequollener, flüssiger disperser Phase entsteht.

Allerdings muß ein gewisser Vorbehalt gemacht werden, insoweit es die Ausscheidung des Fibrins in Form von länglichen Ultramikronen und feinen Mikronen betrifft. Es gelangt nämlich in einem Fibrinalkalihydrosol das Fibrin unter dem Einfluß der erwähnten Reagenzien nur dann regelmäßig zunächst in Gestalt von länglichen Ultramikronen und feinen Mikronen zur Ausscheidung, wenn für die Herstellung des Sols eine nicht zu geringe Menge der Quellungs- bzw. Solbildungsflüssigkeit, im Verhältnis zu der verwendeten Fibrinmenge, benutzt worden ist. Also in dem Falle, wo der Dispersitätsgrad der gequollenen Fibrinteilchen in dem Sol ein verhältnismäßig hoher sein muß.

In sehr stark konzentrierten (d. h. fibrinreichen) Alkalihydrosolen, vor allem in solchen, die mittels eines verhältnismäßig kleinen Quantums einer äußerst schwachen Alkalilösung bereitet worden sind, wird das Fibrin im Gegenteil in der Regel unmittelbar in Form von größeren Mikronen bzw. richtigen Fädchen ausgeschieden. Diese Erscheinung muß naturgemäß den Gedanken aufkommen lassen, daß die Ausscheidung des Fibrins in größeren Molekülkomplexverbänden entweder darauf zurückgeführt werden muß, daß die gequollenen Fibrinteilchen in einem solchen Sol schon (bzw. noch) einen größeren Zusammenhang besitzen, oder darauf, daß die gequollenen Fibrinteilchen vor oder während ihrer Entquellung bzw. Ausscheidung besonders leicht zu größeren Verbänden zusammentreten. Daß das eine oder das andere oder möglicherweise

beides zugleich der Fall sein kann, darauf weist noch ein anderer Umstand hin, nämlich die Tatsache, daß in einem sehr fibrinreichen und zu gleicher Zeit alkaliarmen Fibrinalkalihydrosol gelegentlich eine ganz spontane Gelbildung eintreten kann; allerdings nicht in Form der erwähnten Elemente, sondern als wirkliche Gallerte. Man könnte diese Erscheinung mit dem in der Kolloidchemie ja geläufigen Ausdruck „Altern" der Sole bezeichnen. Es handelt sich dabei offenbar um ein Zusammenlagern von Fibrinteilchen mit verhältnismäßig niedrigem Quellungs- und Dispersitätsgrad.

Es dürfte angemessen sein, hier auf diese Tatsache und auf das etwas andersartige Verhalten der auf verschiedene Weisen hergestellten Fibrinalkalihydrosole überhaupt unter Zugrundelegung der folgenden Fälle etwas näher einzugehen.

a) Stark konzentriertes (d. h. fibrinreiches) alkaliarmes Sol.

b) Stark konzentriertes (d. h. fibrinreiches) alkalireicheres Sol.

c) Schwächer konzentriertes (d. h. fibrinärmeres) alkaliarmes Sol.

d) Schwächer konzentriertes (d. h. fibrinärmeres) alkalireicheres Sol.

a) wird in der Weise hergestellt, daß man auf eine gewisse Gewichtsmenge lufttrockenen Fibrins eine verhältnismäßig kleine Menge einer äußerst schwachen Alkalilösung (z. B. $^{n}/_{500}$-NaOH) einwirken läßt[1]). Die Quellung und somit die Solbildung geht dabei recht langsam vor sich, so daß die verschiedenen, früher erwähnten Quellungsstadien recht klar zur Beobachtung gelangen.

b) wird in der Weise bereitet, daß dieselbe Gewichtsmenge Fibrin wie in a) vorgesehen wurde, in dieselbe Menge einer

---

[1]) Es muß hier dafür Sorge getragen werden, daß die Flüssigkeitsmenge nicht so gering bemessen wird, daß sie schließlich ganz oder fast ganz von der quellenden Fibrinmasse aufgesaugt wird; es muß nach stattgefundener hochgradiger (noch sichtbarer) Quellung wenigstens ein Flüssigkeitsüberschuß von ein paar Kubikzentimetern vorhanden bleiben. Wird alle Flüssigkeit aufgesaugt, so tritt öfters gar keine Verflüssigung bzw. Solbildung ein; ist der Überschuß ein zu geringer, so geht das gequollene Fibrin nur teilweise in Verflüssigung über, indem der verflüssigte Teil dann öfters recht bald wieder „erstarrt".

Alkalilösung wie in a) übertragen wird, jedoch mit dem Unterschied, daß die Alkalilösung etwas stärker ist (z. B. $^n/_{50}$-, $^n/_{100}$-NaOH). Die Quellung und somit die Solbildung gehen in diesem Falle bedeutend rascher vor sich: man bekommt in diesem Falle die verschiedenen Quellungsstadien nur unvollständig zu Gesicht, es greifen die Quellung und die Verteilung (bzw. die Erhöhung des Dispersitätsgrades) des Fibrins hier stärker ineinander.

c) Es wird dieselbe Gewichtsmenge Fibrin wie in a) und b) in eine bedeutend (z. B. 10 mal) größere Menge derselben äußerst schwachen Alkalilösung wie in a) (also $^n/_{500}$-NaOH) übertragen. Die verschiedenen Quellungsstadien treten auch hier weniger deutlich zutage, die Quellung und Solbildung erfolgen weit rascher als im Fall a).

d) wird in der Weise hergestellt, daß man auf dieselbe Gewichtsmenge Fibrin wie in dem vorhergehenden Falle dasselbe Quantum einer Alkalilösung wie in c) einwirken läßt, jedoch eine Alkalilösung von derselben Stärke wie in b) (also $^n/_{50}$-, $^n/_{100}$-NaOH). Die Quellung und Solbildung verlaufen in diesem Falle bedeutend schneller als im Fall c), die Quellung und Verteilung (bzw. die Erhöhung des Dispersitätsgrades) greifen hier erst recht ineinander, dermaßen, daß das Gel sozusagen von seinen Rändern her weggefressen wird.

Vorweg sei nochmals bemerkt, daß in sämtlichen Fällen das Endresultat die Bildung einer Flüssigkeit ist, die sich im frisch hergestellten Zustande durch Papierfilter filtrieren läßt; die Filtrate erweisen sich bei der ultramikroskopischen Untersuchung als praktisch optisch leer.

ad a). Es genügen nicht nur verhältnismäßig geringe Mengen gewisser Reagenzien (wie schwache Säure, gesättigte Neutralsalzlösung, Blutserum, Schmidtsches Reagens), um in diesem Sol Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung zu erzeugen, sondern es gelangt das Fibrin dabei meistens unmittelbar in Form von richtigen Fädchen zur Ausscheidung. Aber außerdem ist ein solches Gel gewöhnlich nicht dauernd stabil. Es kommt nämlich vor, daß innerhalb 24 Stunden (früher oder später) die Viscosität sich erhöht, indem nach etwa 48 Stunden sogar eine spontane Gelbildung in Gallertform eintreten kann. Und zwar entweder in der Weise, daß in dem Sol eine von

Flüssigkeit umgebene Gallertmasse vorgefunden wird, oder so, daß das ganze Sol zu einer Gallertmasse erstarrt ist.

Diese spontane Gelbildung, bzw. dieses „Altern“ des Sols, kann auch dann eintreten, wenn das Sol in einem gut verschlossenen Glasbehälter aufbewahrt, also möglichst vor Verdunstung geschützt wird. Jedoch wird diese Erscheinung durch Aufbewahren des Sols in einem weniger gut verschlossenen Behälter, also wenn es der Verdunstung ausgesetzt ist, bedeutend gefördert. Wird das Sol in einer verhältnismäßig dünnen Schicht in einer offenen Glasschale an die Luft gestellt, so tritt eine Gallertbildung schon sehr früh ein, indem diese Gallerte allmählich konsistenter und fester wird und sich schließlich, im Laufe von Tagen, in eine dünne, brüchige Platte verwandelt.

ad b). Man braucht größere Quantitäten der zuvor erwähnten Reagenzien, um Fibrinausscheidung bzw. Gelbildung in dem frisch gebildeten Sol herbeizuführen. Wenn auch hier das Fibrin dabei vorwiegend in Form von Fädchen ausgeschieden wird, so tritt doch die Ausscheidung in Gestalt von länglichen feinen Mikronen und Ultramikronen nicht so sehr in den Hintergrund wie im Fall a). Die Erscheinung der spontanen Gelbildung, bzw. das Altern des Sols läßt sich auch bei diesem Sol gelegentlich beobachten, sie tritt jedoch, wo sie überhaupt bemerkbar wird, erst bedeutend später ein als im Fall a). Wird es in der erwähnten Weise der Verdunstung ausgesetzt, so werden dieselben Erscheinungen wie im Fall a) unter ähnlichen Umständen wahrgenommen.

ad c). Von einer genügenden Menge eines der aufgezählten Reagenzien wird das Fibrin durchweg zunächst zur Ausscheidung gebracht in Form der typischen länglichen Ultramikronen und feinen Mikronen. Die Erscheinung des Alterns bzw. eine spontane Gelbildung in Gallertform tritt nicht ein: das Sol ist, wenn vor Verdunstung geschützt, stabil.

ad d). Von schwachen Säuren wird das Fibrin regelmäßig zur Ausscheidung gebracht, und zwar stets zunächst in Gestalt der länglichen Ultramikronen und Mikronen. Gesättigte Neutralsalzlösungen, Serum, das Schmidtsche Reagens vermögen in diesem Sol nicht, die Fibrinausscheidung zu bewirken. Das Sol ist stabil, wenn eine Verdunstung verhütet wird.

Wir sehen also, daß ein Fibrinalkalihydrosol (und dasselbe gilt cet. parib. von den Fibrinsäurehydrosolen) sich keineswegs immer in einheitlicher Weise verhält. Namentlich die Erscheinung des „Alterns“ in stark konzentrierten (d. h. fibrinreichen) Alkalihydrosolen dürfte unser besonderes Interesse beanspruchen. Es handelt sich nämlich bei dieser spontanen Fibrinausscheidung, bzw. bei diesem Altern des Sols um ein Gel, das den Eindruck erweckt, eine wirkliche Gallerte zu sein und tatsächlich auch als eine solche gedeutet werden dürfte. Wird die Gallertmasse tüchtig geschüttelt, so fällt sie in Gallertklümpchen auseinander. Bei den mikro- und ultramikroskopischen Untersuchungen solcher Gallertklümpchen beobachtet man nur „Schollen“, die beim stärkeren Andrücken unter gleichzeitigem Hin- und Herschieben des Deckglases gewöhnlich ein etwas streifiges Aussehen bekommen, ohne daß richtige Fädchen, geschweige denn Nadeln bemerkbar werden. Auch nach gründlicher Nadelpräparation bilden sich nicht Fädchen, immer nur Schollenstücke, in denen keine deutliche Struktur zu erkennen ist. Werden die Gallertklümpchen in wiederholt erneuertem Wasser gewaschen, so verwandeln sie sich, jedoch erst nach geraumer Zeit, in Häutchen, in denen sich ebensowenig eine ausgesprochene Fädchenstruktur erkennen läßt; die Nadelpräparation ergibt nur Fetzen. Auch unter dem Einfluß einer länger dauernden Einwirkung einer gesättigten Fluornatrium- oder Kochsalzlösung auf die Gallertklümpchen werden diese schließlich in Häutchen verwandelt. Dabei habe ich die Erfahrung gemacht, daß der letztere Vorgang unter dem Einfluß einer gesättigten Kochsalzlösung langsamer vor sich geht als unter dem einer gesättigten Fluornatriumlösung[1]).

---

[1]) Diese Beobachtung läßt auf eine gewisse Übereinstimmung mit der Tatsache schließen, daß die in einem Fibrinalkalihydrosol unter dem Einfluß einer gesättigten NaF-Lösung zur Ausscheidung gelangenden Nädelchen sich gewöhnlich schärfer ausnehmen als die, die unter dem Einfluß einer gesättigten NaCl-Lösung ausgeschieden werden. Man könnte geneigt sein, diese Befunde auf ein größeres wasseranziehendes Vermögen einer gesättigten NaF-Lösung, im Vergleich mit einer gesättigten NaCl-Lösung, zurückzuführen, wenn nicht eine andere Erfahrung diese Folgerung hinfällig machen würde. Nämlich die, daß man eben eine größere Menge einer gesättigten NaF-Lösung als einer gesättigten NaCl-Lösung braucht, um in einem und demselben Fibrinalkalihydrosol

Man bekommt also den Eindruck bei der spontanen Gelbildung, bzw. dem Altern, in einem stark konzentrierten Fibrinalkalihydrosol es mit einem wirklich gallertigen Zwischenstadium zu tun zu haben, wie das bei der Fibrinausscheidung durch Eintrocknenlassen des Sols zunächst ebenfalls zutreffen mag. Es dürfte diese Gallerte ihr Dasein eben dem Umstande zu verdanken haben, daß die Fibrinteilchen in noch gequollenem Zustande zusammengetreten sind, und, unter partiellem Verlust von Quellungswasser, in einen „halbflüssigen", optisch wahrnehmbaren Zustand übergehen[1]).

Fibrinausscheidung zu erzeugen. Es sind mir denn auch diese Befunde unverständlich.

[1]) Wie schon wiederholt betont, wird, soweit meine Erfahrung reicht, ein solches wirklich gallertiges Zwischenstadium in schwachen konzentrierten künstlichen Fibrinalkalihydrosolen und natürlichen Gerinnungsflüssigkeiten nicht beobachtet. Damit soll nicht gesagt sein, daß es keine solche natürliche Gerinnungsflüssigkeiten geben könne. Es ist ja von vornherein sehr wohl möglich, daß gewisse pathologische Gerinnungsflüssigkeiten (vielleicht Exsudate?) so fibrinreich sind, daß auch in solchen Fällen das Fibrin bei der „spontanen Gerinnung" in Form einer wirklichen Gallerte zur Ausscheidung gelangen könnte. Mir sind bis jetzt solche Flüssigkeiten zwar nicht unter die Augen gekommen, aber ich habe begreiflicherweise in bezug auf pathologische Gerinnungsflüssigkeiten vorwiegend mit Transsudaten gearbeitet. Wie ich an einer anderen Stelle (Zeitschr. f. physikal.-chem. Biol. 2, 279, 1915) erwähnte, ist derzeit von Nasse und Virchow die Ansicht vertreten worden, daß das Fibrin stets zunächst in Form einer wirklichen Gallerte zur Ausscheidung gelange, bzw. daß stets ein sichtbares gallertiges Zwischenstadium durchlaufen wird. Wenn auch diese Autoren dadurch irregeführt sein mögen, daß ein in seinen interfibrillären Räumen mit Flüssigkeit durchtränktes Fibrinfädchensystem den Eindruck einer wirklichen Gallerte und in dem mikroskopischen Präparat von gallertigen „Schollen" erwecken kann, so wäre doch damit zu rechnen, daß Nasse und namentlich Virchow (welch letzterer Autor seine Beobachtungen ja hauptsächlich an pathologischem Material gemacht hat) gelegentlich mit solch fibrinreichen pathologischen Gerinnungsflüssigkeiten zu tun gehabt und Ausnahmefälle für die Regel angesehen haben. Ich kann noch hinzufügen, daß mir außer in stark konzentrierten und alkaliarmen Fibrinalkalihydrosolen nur noch in der nach dem Hammarstenschen Verfahren hergestellten Gerinnungsflüssigkeit, allerdings nur ausnahmsweise, ein „spontan" sich abscheidendes gallertiges Gel begegnet ist, in dem sich keine Fädchensubstanz nachweisen ließ, und zwar eben nur dann, wenn es sich um eine sehr fibrinreiche Flüssigkeit handelte. Übrigens sei bemerkt, daß bei der „spontanen" Gelbildung in der Hammarsten-

Nun dürfte die Tatsache, daß in einem Fibrinalkalihydrosol unter gewissen Umständen eine spontane Gelbildung eintreten kann, an sich nicht allzusehr befremden. Denn die Erscheinung des „Alterns" ist ja auch vor manchen anderen „kolloiden Lösungen" sehr wohl bekannt.

Bechhold[1]) äußert sich z. B. zu dieser Erscheinung folgendermaßen:

„Die meisten Alterserscheinungen der Sole sind dadurch charakterisiert, daß aus einer stark dispersen Lösung die Teilchen sich zusammenlagern und gröbere Teile bilden, daß ihre Ausflockbarkeit erhöht ist oder sie gar von selber ausflocken."

Bei dem „Altern" eines Fibrinalkalihydrosols handelt es sich naturgemäß ebenfalls um ein Zusammenlagern der Teilchen, aber von Fibrinteilchen, die sich unter Alkalieinfluß in einem gewissen wassergequollenen Zustande befinden. Das „Altern" tritt übrigens in einem Fibrinalkalihydrosol nur unter gewissen Bedingungen auf. Und zwar eben vor allem in einem stark konzentrierten (d. h. fibrinreichen und alkaliarmen) Sol, d. h. in einem Sol, das mittels einer verhältnismäßig geringen Menge einer äußerst schwachen Alkalilösung hergestellt worden ist. In einem ebenso stark konzentriertem (d. h. gleich fibrinreichen) Sol, das mit derselben Menge einer etwas stärkeren Alkalilösung bereitet ist (Fall b), tritt die Erscheinung des Alterns nicht oder erst bedeutend später ein. Und in einem weniger stark konzentrierten (d. h. fibrinarmen) Sol (Fall c und d) bleibt die Erscheinung ganz aus.

Fragen wir uns, welches die Ursachen dieses verschiedenen Verhaltens der erwähnten Fibrinalkalihydrosole sein mögen, so kommen dafür, wie mir scheint, der Quellungs- und der Dispersitätsgrad, in dem das Fibrin sich in den Solen vorfindet, in Betracht. Es dürften die Verhältnisse etwa folgendermaßen liegen.

In dem Fall a hat das Fibrin aus der relativ geringen Quantität der äußerst schwachen Alkalilösung nur so viel Alkali adsorbieren bzw. speichern und demzufolge nur so viel Wasser

---

schen Flüssigkeit das Fibrin in der Regel in Gestalt eines Fädchenwerks zur Beobachtung gelangt.

[1]) Die Kolloide in Biologie und Medizin. Th. Steinkopff, Dresden 1912.

aufnehmen können, um einen solchen Quellungs- und Dispersitätsgrad zu erreichen, daß gerade noch ein Sol, also ein disperses System mit flüssiger disperser Phase entstehen konnte. Es hat, um es anders auszudrücken, die Schwelle, die zwischen dem hochgradigen sichtbaren Quellungszustand und dem Solzustand, bzw. zwischen dem System mit halbflüssiger, noch äußerst niedriger disperser Phase und dem System mit flüssiger höherer disperser Phase, vorhanden ist, gerade überschritten werden können. Die einzelnen Fibrinteilchen finden sich in diesem Sol dementsprechend in einem verhältnismäßig niedrigen Quellungsgrad und das Fibrin in einem relativ niedrigen Dispersitätsgrad vor. Naturgemäß kommt dabei zugleich der Umstand in Betracht, daß der Dispersitätsgrad noch dadurch beeinflußt wird, daß es sich hier um eine sehr fibrinreiche bzw. stark konzentrierte Flüssigkeit handelt.

Indem das adsorbierte Alkali den Fibrinteilchen das Vermögen verliehen hat, so viel Wasser aufnehmen zu können, daß gerade noch ein Sol entstehen konnte, scheint die Menge des adsorbierten Alkalis in diesem Fall nicht zu genügen, damit die Fibrinteilchen das ganze aufgenommene Wasser dauernd festhalten können. Wird das Sol sich selbst überlassen, so verlieren demzufolge die Fibrinteilchen einen Teil ihres Quellungswassers, sie gehen in einen weniger flüssigen bzw. halbflüssigen Zustand über.

Die etwas abgequollenen bzw. halbflüssigen Fibrinteilchen treten dabei zugleich zusammen (für welchen Vorgang der niedrige Dispersitätsgrad naturgemäß eine äußerst günstige Bedingung darstellt). Es gelangt daher ein optisch wahrnehmbares, aus noch halbflüssigen Fibrinteilchen bestehendes, wirklich gallertiges Gel zur Ausscheidung: es ist die Erscheinung des Alterns eingetreten[1]). Es handelt sich hier wohl um eine ganz

---

[1]) Es sei in diesem Zusammenhang noch darauf hingewiesen, daß ein mit dieser Erscheinung gewissermaßen auf eine Linie zu stellender Vorgang bei einer unter Alkalieinfluß in starker sichtbarer Quellung versetzten Fibrinmasse eintreten kann. Wird nämlich eine lufttrockene Fibrinfädchenmasse in eine so geringe Menge einer äußerst schwachen Alkalilösung übertragen, daß die ganze vorhandene Flüssigkeit schließlich von der Fibrinmasse aufgesaugt wird, und zwar dermaßen, daß das Fibrin dabei in einen hochgradigen (gallertigen) Quellungszustand versetzt worden

spontan erfolgende Erscheinung, die möglicherweise im Rahmen der Lehre von den Oberflächenspannungsverhältnissen einen Platz finden könnte. Doch möchte ich schon an dieser Stelle bemerken, daß hier eine Anzahl von ganz minimalen Einflüssen vorhanden sein dürfte, die bei dem Altern in diesem Fall, jeder für sich und in Zusammenhang miteinander, eine Rolle spielen könnten. Wir müssen uns doch vergegenwärtigen, daß das Fibrin spezifisch sehr leicht ist, so daß die gequollenen Fibrinteilchen deswegen das Bestreben haben werden, nach oben zu steigen, was eine Zusammenlagerung mit sich bringen muß. Dann dürfte weiter in Betracht gezogen werden, daß die gequollenen Fibrinteilchen in „halbflüssigem“ bzw. nur mäßig gequollenem Zustande, und möglicherweise auch in „flüssigem“ bzw. stärker gequollenem Zustande, klebrig sind, was sich ebenfalls bei der Zusammenlagerung der Fibrinteilchen geltend machen dürfte. Weiter fragt es sich, ob die allmähliche Wasserabgabe der gequollenen Fibrinteilchen lediglich darauf zurückgeführt werden muß, daß die Menge des adsorbierten Alkalis nicht genügt, um die Fibrinteilchen zu befähigen, ihr Quellungswasser dauernd festzuhalten. Außer mit diesem Hauptfaktor müßte, wie mir scheint (abgesehen von dem Umstand, daß von der Glasfläche eine minimale Wirkung ausgeübt werden könnte), mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß ein ganz geringer Teil des Quellungswassers, trotzdem das Sol in einem verschlossenen Glasschälchen aufgehoben wird, durch Verdunstung verloren gehen könnte. Diese Vermutung wird durch die Tatsache bestärkt, daß die Gallertbildung in dem betreffen-

---

ist, so geht die Masse nicht in Verflüssigung bzw. in ein Sol über. Wird die stark gequollene Masse in einem verschlossenen Glasschälchen sich selbst überlassen, so findet man sie nach 24 Stunden gewöhnlich in einem etwas weniger hohen Quellungszustande vor, während etwas Flüssigkeit aus der Masse ausgetreten ist. Die stark gequollene Masse hat also offenbar auf spontanem Wege einen Teil ihres Quellungswassers verloren: das gespeicherte Alkali war in diesem Fall nicht imstande, dem gequollenen Fibrin die Kraft zu verleihen, das ganze aufgenommene Quellungswasser dauernd festzuhalten. Man könnte auch hier von einem „Altern“ der gequollenen Fibrinmasse sprechen. Es bildet übrigens dieser Fall das Gegenstück von dem, wo eine sich noch in einem weit niedrigeren Quellungsstadium vorfindende Fibrinmasse ihr Quellungswasser sogar der Schwerkraft entgegen festzuhalten vermag.

den Sol bedeutend rascher vor sich geht, wenn das Sol an der Luft in einem unverschlossenen Glasschälchen aufbewahrt wird. Es verwandelt sich das Sol dabei, von oben nach unten fortschreitend, in eine halbflüssige gallertige und dann in eine halbfeste Masse, die ihrerseits wieder in eine biegsame und schließlich in eine starre, brüchige Substanz übergeht.

Infolge des Umstandes, daß der Quellungsgrad der Fibrinteilchen in dem Sol a) ein verhältnismäßig geringer ist, bzw. daß die Fibrinteilchen nur eine relativ kleine Alkalimenge adsorbiert und demzufolge nur verhältnismäßig wenig Wasser ganz locker „gebunden" enthalten, ist zugleich die „Ausflockbarkeit" oder richtiger die „Entquellungsfähigkeit" des Fibrins in dem Sol a) unter dem Einfluß von Reagenzien eine sehr hohe. Es genügen schon geringe Mengen eines Alkali- bzw. wasserentziehenden Mittels, um die Fibrinteilchen zur Entquellung und das Fibrin zur Ausscheidung zu bringen. Weil dabei der Dispersitätsgrad des Fibrins in dem betreffenden Sol gleichzeitig ein relativ niedriger ist, werden die Fibrinteilchen sich schon während der Entquellung leicht zu größeren Verbänden anordnen (und zwar infolge einer besonderen Eigenschaft zu Längsverbänden). Das Fibrin erscheint infolgedessen in diesem Sol eben vorwiegend in Form von größeren Mikronen und namentlich von richtigen Fädchen. Es gehen in dem Sol a) somit die Neigung zum Altern und die erhöhte „Ausflockbarkeit" unter dem Einfluß von Reagenzien Hand in Hand.

In dem Sol b) ist die vorerwähnte Schwelle weiter überschritten, weil das Fibrin aus der (zwar ebenfalls geringen) Menge der etwas stärkeren Alkalilösung mehr Alkali hat speichern und folglich mehr Wasser und dazu fester hat „binden" können. Es ist demgemäß der Quellungsgrad und zweifellos zugleich der Dispersitätsgrad des Fibrins in diesem Sol ein beträchtlich höherer als im Fall a). Gemäß den eben entwickelten Gesichtspunkten darf es nicht wundernehmen, daß das Sol b) bedeutend stabiler ist als das Sol a), bzw. daß in dem Sol b) die Erscheinung des Alterns nicht oder erst bedeutend später eintritt als in dem Sol a). Wird keine Vorkehrung getroffen, um der Verdunstung vorzubeugen, so finden unter dem Einfluß des

Verdunstens an der Luft ganz ähnliche Vorgänge statt wie im Sol a). Dem höheren Quellungsgrad bzw. dem höheren Alkali- und Wassergehalt der Fibrinteilchen ist es ebenfalls zu verdanken, daß die Entquellungsfähigkeit (bzw. „Ausflockbarkeit") unter dem Einfluß von Reagenzien in dem Sol b), dem Sol a) gegenüber, eine geringere ist, d. h. daß größere Mengen von alkali- bzw. wasserentziehenden Mitteln nötig sind, um die gequollenen Fibrinteilchen zu entquellen, bzw. um das Fibrin zur Ausscheidung zu bringen. Der höhere Dispersitätsgrad, in dem sich das Fibrin in dem Sol b) vorfinden muß, bedingt, daß die Ausscheidung des Fibrins unmittelbar in Form von größeren Mikronen bzw. richtiger Fädchen in dem Sol b) weniger stark in den Vordergrund tritt als im Sol a).

In dem Sol c) und namentlich d) ist die mehrfach erwähnte Schwelle bedeutend stärker überschritten worden als in Sol a). In beiden Fällen ist außerdem der Dispersitätsgrad des Fibrins schon deswegen ein weit höherer, weil diese Sole erheblich weniger „konzentriert" sind. In dem Fall c) hat dem Fibrin in der zwar äußerst schwachen, aber in größerer Menge benutzten Alkalilösung mehr Alkali zur Verfügung gestanden. Das Fibrin hat demzufolge mehr Alkali speichern und somit mehr Wasser aufnehmen können, so daß die Fibrinteilchen, außer in einen höheren Dispersitätsgrad, in einen höheren Quellungszustand versetzt werden konnten als in dem Fall a). Das trifft naturgemäß für das Sol d) erst recht bzw. in noch erhöhtem Maße zu.

Infolge des höheren Quellungs- und Dispersitätsgrades bleibt eine spontane Gelbildung bzw. die Erscheinung des Alterns in den Solen c) und d) ganz aus. Und infolge derselben Ursachen ist die „Ausflockbarkeit" unter dem Einfluß von alkali- und wasserentziehenden Reagenzien in c) eine geringere als in a), und in d) wieder eine geringere als in c). Letzteres gilt nicht nur für schwache Säuren, sondern ebenfalls für gesättigte Neutralsalzlösungen, die ihren Angriffspunkt nur in dem Wasser finden können, dagegen mit dem Alkali, sei es mit dem der gequollenen Fibrinteilchen oder mit dem des „Dispersionsmittels", nicht zu reagieren vermögen. Während im Fall c) auch unter dem Einfluß von gesättigten Neutralsalzlösungen (sowie von Serum und dem Schmidtschen Reagens) regelmäßig Fibrin-

ausscheidung erzeugt werden kann, wenn diese Reagenzien nur in genügender Menge verwendet werden, ist das mit dem Sol d) nicht der Fall; in dem Sol d) kann, was die erwähnten Reagenzien betrifft, regelmäßig nur von schwachen Säuren Fibrinausscheidung herbeigeführt werden. Übrigens dürfte es dem höheren Dispersitätsgrad, in dem das Fibrin in den Solen c) und d) vorhanden ist, zu verdanken sein, daß das Fibrin in diesen Solen stets zunächst in Form von feineren Molekelverbänden (längliche Ultramikronen und feine Mikronen) „ausgeflockt“ bzw. zur Ausscheidung gebracht wird.

Es sei noch nachdrücklich darauf hingewiesen, daß der Dispersitätsgrad für die größere oder geringere „Ausflockbarkeit“, d. h. Ausscheidungsfähigkeit unter dem Einfluß von Reagenzien, Nebensache ist, im Gegensatz zu den Vorgängen beim Eintreten des Alterns. Es kann sogar eine erhöhte „Ausflockbarkeit“ mit einer Erhöhung des Dispersitätsgrades parallel gehen.

Ein schlagendes Beispiel dafür liefert die durch Zusatz von Wasser im Übermaß zu erzeugende Fibrinausscheidung in einem Fibrinalkalihydrosol. Wird das Sol a), also eine Flüssigkeit, in der sich die Fibrinteilchen in einem verhältnismäßig niedrigen Quellungs- und Dispersitätsgrad vorfinden, mit reichlichen Mengen Wasser versetzt, also stark verdünnt, so tritt Fibrinausscheidung ein. Es wird naturgemäß infolge des erheblichen Wasserzusatzes der Dispersitätsgrad der gequollenen Fibrinteilchen zunächst außerordentlich erhöht: nichtdestoweniger tritt Fibrinausscheidung bzw. „Ausflockung“ ein. Die Sachlage ist in diesem Fall offenbar die folgende. Indem das Fibrin von dem hinzugefügten Wasser zunächst in einen weit höheren Dispersitätsgrad versetzt wird, macht sich dann das Wasser allmählich dem Alkali der gequollenen Fibrinteilchen gegenüber geltend. Es wird den gequollenen Fibrinteilchen von dem hinzugesetzten Wasser Alkali entzogen, mit dem Ergebnis, daß die Fibrinteilchen auch ihr Quellungswasser verlieren und somit in entquollenen (bzw. halbfesten) Zustand übertreten. Es tritt dann die merkwürdige Eigenschaft der Fibrinteilchen in Kraft, sich während und nach ihrer Entquellung zu Längsverbänden anzuordnen. Man erkennt das Fibrin als längliche Ultramikronen, Mikronen und schließlich

Fädchen. Dieser Vorgang bringt naturgemäß nunmehr eine Verringerung des Dispersitätsgrades des Fibrins, und zwar eine besonders starke, mit sich.

Wir können die in Rede stehenden Verhältnisse auch folgendermaßen zum Ausdruck bringen. Es wird ein mäßig stark disperses System mit nur mäßig stark gequollener (jedoch immerhin flüssiger) disperser Phase durch Wasserzusatz zunächst in ein hoch disperses System mit mäßig stark gequollener (immerhin flüssiger) disperser Phase verwandelt. Aus dem letzteren System geht dann (infolge der vor sich gehenden Entquellung der dispersen Phase) ein disperses System mit halbfester disperser Phase hervor, indem dieses System sich wieder in ein solches verwandelt, in dem die disperse entquollene bzw. halbfeste Phase dermaßen zusammenhängend wird, daß scheinbar homogene Fibrinmolekelkomplexverbände (längliche Ultramikronen, Mikronen und schließlich Fädchen) entstehen, bzw. daß schließlich ein aus scheinbar homogenen Fädchen zusammengestelltes Gel bzw. „Gerinnsel" gebildet wird.

Es ergibt sich also, daß ein niedriger Quellungsgrad (d. h. ein niedriger Alkali- bzw. Wassergehalt der einzelnen gequollenen Fibrinteilchen), verbunden mit einem niedrigen Dispersitätsgrade des Fibrins in einem Fibrinalkalihydrosol, für das Eintreten der Erscheinung des Alterns (d. h. die spontane Gelbildung in wirklicher Gallertform) am günstigsten, gewissermaßen sogar Vorbedingung ist; daß dagegen die größere oder geringere „Ausflockbarkeit" unter dem Einfluß von Reagenzien vor allem von dem Quellungsgrad der einzelnen Fibrinteilchen beherrscht wird, indem der Dispersitätsgrad des Alkalihydrosols dabei Nebensache ist; daß also, je niedriger der Quellungsgrad, desto größer die „Ausflockbarkeit" ist und umgekehrt; daß schließlich der Dispersitätsgrad vorwiegend einen Einfluß ausübt auf die Form, in der das Fibrin bei der ultramikroskopischen Beobachtung des Fibrinausscheidungsvorgangs sichtbar wird.

Wenn auch die bei dem Eiweißkörper Fibrin vorliegenden Verhältnisse meines Erachtens W. Ostwalds Einführung von

der Lehre von den dispersen Systemen wieder einmal als einen glücklichen Griff erscheinen lassen, so stellt sich doch gleichzeitig heraus, daß die auf jener Basis weiter ausgesponnene Terminologie in dem obigen Falle nicht genügt. Dieser Mangel hat seine Ursache namentlich darin, daß in dem Eiweißkörper Fibrin eine kolloide Substanz vorliegt, die „kolloide Lösungen“ mit verschiedenen Eigenschaften bilden kann, je nachdem einfach reines Wasser als Dispersionsmittel benutzt wird oder Wasser mit einem „Elektrolytzusatz“ (z. B. Alkali oder Säure) zur Verwendung kommt. Man könnte innerhalb des Rahmens der Ostwaldschen Terminologie ganz im allgemeinen die wäßrigen Fibrinsuspensionen mit ganz entquollenen bzw. festen und nahezu entquollenen bzw. halbfesten Teilchen ein disperses System mit „inaktiver“ disperser Phase und ein unter dem Einfluß von Alkali oder Säure gebildetes Sol mit flüssigen bzw. gequollenen Fibrinteilchen ein disperses System mit „aktiver“ disperser Phase nennen. Aber damit wären die Verhältnisse noch nicht genügend deutlich definiert, weil ja die „aktive“ disperse Phase sowohl dem Alkali wie der Säure seinen „aktiven“ Zustand bzw. seine „Ladung“ verdanken kann. Es erscheint doch wünschenswert, diese natürlich verschiedene Eigenschaften aufweisenden Systeme dermaßen zu benennen, daß sofort klar ist, welches dieser Systeme gemeint ist. Um diesem Bedürfnis abzuhelfen, habe ich eben für diejenigen Sole, in denen sich die Fibrinteilchen unter dem Einfluß von Alkali in einem wassergequollenen, flüssigen, aktiven Zustande vorfinden, bzw. in denen die Fibrinteilchen eine zu jeder Zeit reagierfähige „Ladung“ von Alkali und Wasser enthalten, den Namen Fibrinalkalihydrosole, und für diejenigen Sole, in denen sich Säure in entsprechender Weise geltend macht, den Namen Fibrinsäure hydrosole verwendet.

Es drängt sich nun nach wie vor die weitere Frage auf, um welche nähere Vorgänge es sich bei der Alkali- (bzw. Säure-) speicherung und der Wasserbindung seitens des Fibrins, also bei der „Ladung“ der Fibrinteilchen mit Alkali (bzw. Säure) und Wasser handeln mag. Es hängt diese Frage unmittelbar zusammen mit einer anderen, die wir verläufig unberücksichtigt gelassen haben, nämlich die nach der physikalischen Natur der

quellbaren Bausteine des Fibrins, bzw. der quellbaren mikro-, ultramikro- und schließlich amikroskopischen Fibrinmolekülkomplexe. Wo sich herausgestellt hat, daß es sich dabei nicht um Krystalle im gewöhnlichen Sinne des Wortes handeln kann, da fragt es sich, welche Vorstellung man sich dann wohl von der physikalischen Natur der größeren, kleineren und allerkleinsten Fibrinmolekelkomplexe bilden soll. Diese Fragen zu klären, wollen wir in dem nächsten Aufsatz versuchen.

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration kleinster Flüssigkeitsmengen.

Von

R. J. Wagner.

(Aus dem Institute für landwirtschaftliche Pflanzenproduktionslehre und der Versuchswirtschaft der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 22. Februar 1916.)

Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration kleinster Flüssigkeitsmengen.

Seit den fundamentalen Arbeiten Sörensens[1]) ist die Wichtigkeit der Messung der Wasserstoffionenkonzentration für das Verständnis fermentativer Prozesse allgemein anerkannt. Die verschiedenen Methoden, elektrolytische und colorimetrische, gestatten die Messung der H-Ionenzahl größerer Flüssigkeitsmengen in äußerst präziser Weise.

Zur Bestimmung der H-Ionenkonzentration minimaler Flüssigkeitsmengen sind sie jedoch ohne weiteres nicht geeignet.

Bei meinen Untersuchungen über das Auftreten bakterizider Stoffe in Pflanzen[2]) machte ich die Entdeckung, daß parallel mit dem Auftreten bakterizider Stoffe Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration einhergehen. Da man aber den von mir verwendeten Versuchspflanzen nur geringe Mengen Zellsaft entnehmen kann (5 bis 10 cmm), ohne den Zellturgor durch Wundreaktion[3]) zu beeinflussen, so mußte ich mir eine

---

[1]) Sörensen, Enzymstudien II. Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

[2]) R. J. Wagner, Über bakterizide Stoffe in gesunden und kranken Pflanzen. Centralbl. f. Bakt. II 42, 613, 1914. — Derselbe, Wasserstoffionenkonzentration und natürliche Immunität der Pflanzen. Ebenda I, 1915.

[3]) Böhm, Die Respiration der Kartoffel. Botan. Zeitg. 1881, 1887.

Methode ausarbeiten, die gestattet, mit solch kleinen Flüssigkeitsmengen die H-Ionenkonzentration zu bestimmen.

Die Wasserstoffionenkonzentration der bei meinen Versuchen verwendeten Pflanzen resp. die durch den bakteriellen Reiz hervorgerufenen Schwankungen derselben bewegen sich zwischen P_H 4,2 und 6,0.

Es gelang mir nun, im Lackmosol Hottingers[1]) einen Stoff zu finden, der in den beschriebenen Grenzen zur Bestimmung der H-Ionenkonzentration auf colorimetrischem Wege ausgezeichnet zu verwenden ist.

Die Schwierigkeit bestand nun darin, den zu untersuchenden geringen Flüssigkeitsmengen einerseits so wenig Indicator zuzusetzen, daß die H-Ionenkonzentration nicht wesentlich geändert wird, anderseits muß aber wieder genügend Indicator vorhanden sein, um den Farbton präzise erfassen zu können.

Nach einigem Experimentieren gelang es mir, diese Hemmungen dadurch zu beseitigen, daß ich überhaupt keinen flüssigen Indicator verwendete, sondern die zu prüfende Flüssigkeit von einem mit dem Indicator imprägnierten Gel einsaugen ließ.

1. Darstellung des Lackmosols.

Die Darstellung des Lackmosols erfolgte nach Hottingers Methode[2]). Es ist darauf zu achten, daß die Reste des gelbroten Farbstoffes unbedingt beseitigt werden, was bei spektroskopischer Kontrolle ja sehr genau erfolgen kann. Selbst kleine Reste dieses Farbstoffes machen Lackmosol wenig als Indicator geeignet. Ist dieser störende Farbstoff entfernt, so wird das gepulverte Lackmosol im Extraktionsapparat mit Äther erschöpft.

Ich stellte Lackmosol einige Male her und erhielt unter diesen Kautelen stets einen spektrometrisch gleichen Farbstoff von gleicher Empfindlichkeit und gleichen Übergangspunkten.

Hat man sich, wie angegeben, vergewissert, daß das Lackmosol rein ist, so destilliert man den Äther ab, trocknet im Vakuumexsiccator über KOH und Paraffin und kann den ge-

---

[1]) Hottinger, Über Lackmosol, den empfindlichen Bestandteil des Indicators Lackmoid. Diese Zeitschr. 65, 1914.

[2]) Hottinger, l. c.

pulverten Farbstoff lange Zeit (ich habe Lackmosol jetzt durch 6 Monate, ohne daß es sich verändert hätte) vorrätig halten.

2. Präparation der Indicatorenplatte.

1 Gewichtsteil des gepulverten Indicators wird in 30 Gewichtsteilen 6%igem Kollodium, das per Gramm 2 Tropfen absol. Alkohol enthält, gelöst.

Auf gut gereinigten, trockenen Objektträgern wird das Lackmosol-Kollodium mittels eines Pinsels in gleichmäßiger Schicht verteilt, sofort in einen Exsiccator mit KOH gebracht und einige Minuten liegen gelassen.

Dabei ist darauf zu achten, daß das alkoholhaltige Lackmosolkollodium überaus empfindlich ist, die Ausdünstung der Hand, die ausgeatmete Luft schon einen Farbenumschlag gibt.

Am besten arbeitet man mit Gummihandschuhen. Die Objektträger müssen mit gleichmäßiger Schicht überzogen sein, resp. aus den präparierten Platten sind die mit gleicher Schichtdicke auszuwählen und nur solche zu verwenden. Bei einiger Übung ist die Technik der Emulsionierung leicht und sicher durchzuführen.

3. Die Reaktion.

Eine dünne Glascapillare versieht man mit einer Marke bei z. B. 10 cmm Fassung. Nun nimmt man bis zur Marke die zu prüfende Flüssigkeit auf, verschließt die obere Öffnung der Capillare mit Wachs, stellt die Capillare senkrecht auf einen präparierten Objektträger auf und treibt durch die Wärme der Hand die ganze Flüssigkeitsmenge auf die Lackmosolemulsion.

Dann legt man die Platte sofort in den KOH-Exsiccator zurück. Auf gleiche Weise legt man auf einer zweiten Platte eine Skala der H-Ionenkonzentration in $^1/_{10}$ P_H-Zitratsäure resp. Base an. Nach 10 Minuten nimmt man die Platten zur Untersuchung wieder aus dem CO_2-freien Raum heraus.

4. Untersuchung.

Zuerst prüft man Proben- und Skalenplatte mit freiem Auge auf gleichen resp. nahezu gleichen Farbton. Es gelingt sehr leicht, die H-Ionenkonzentration auf $^2/_{10}$ bis $^3/_{10}$ P_H abzuschätzen.

Dann stellt man zwei gleiche Mikroskopstative auf, die man durch ein Vergleichsokular verbindet. Die Lichtquelle stellt man gleich weit von beiden Stativen auf, schaltet den Abbe aus, stellt die Blenden gleich und verschiebt die Skalenplatte so lange, bis der Farbton beider Hälften des Gesichtsfeldes fast gleich ist. Ich verwende Objektiv Reichert 3 und Ocular Comp. 4.

Die subjektiven Fehler der Ablesung liegen unter $^1/_{40}$ P_H, so daß $^1/_{20}$ P_H sehr genau geschätzt werden kann.

Zusammenfassung.

1. Die von mir beschriebene Indicatorenmethode gestattet die Messung der Wasserstoffionenkonzentration in 5 bis 10 cmm Flüssigkeit.

2. Die Grenzen der Empfindlichkeit der Lackmosolemulsion liegen bei P_H 4,2 = rot, bei 6,0 = blau.

3. $^1/_{10}$ P_H läßt sich einwandfrei bestimmen, $^1/_{20}$ P_H kann geschätzt werden.

4. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration erfolgt nicht in absoluten Werten, da der Salz- und Eiweißfehler vernachlässigt werden muß. Die relative Bestimmung kann jedoch nach Ermittlung des Salz- und Eiweißfehlers zu einer absoluten umgerechnet werden.

5. Die dieser Methode anhaftenden Mängel sind folgende:

a) Sie ist nur für farbenempfindliche Augen empfehlenswert.

b) Die Schicht der präparierten Objektträger muß annähernd gleich dick sein, was doch einige Übung erfordert.

c) In Räumen mit Laboratoriumsdünsten versagt die Methode total, schon die Atmungsluft und Ausdünstung der Hände gibt einen Farbenumschlag.

d) Es müssen immer frisch präparierte Platten verwendet werden.

Biochemische Betrachtungen über Vererbung und über die Grenzen der Körpergröße und der Lebensdauer.

Von

Otto Rahn.

(Vor dem Kriege Assistant Professor of Bacteriology, University of Illinois, U. S. A.)

(Eingegangen am 28. Februar 1916.)

Die in den folgenden Seiten gegebene Spekulation zur Erklärung einiger biologischen Grundeigenschaften aller Lebewesen ist ganz unbeweisbar. Trotzdem scheint mir eine kurze Veröffentlichung berechtigt, denn diese Spekulation wird aus einer Annahme abgeleitet, die zur Erklärung des Einflusses der Temperatur auf Lebensvorgänge gute Dienste geleistet hat.

Ich hatte in einer kürzlich erschienenen Arbeit[1]) angenommen, daß Endoenzyme, Zymasen und ähnliche thermolabile Substanzen in der Zelle ebenso schnell zerfallen wie nach ihrer Abtrennung vom lebenden Organismus, daß aber die Zelle unter normalen Bedingungen diese Stoffe ebenso schnell wieder neu bildet. Die normale Zelle würde danach mit einer konstanten Enzymmenge arbeiten, die, wie das Wasser eines Stromes, aus ewig neuen Molekülen sich zusammensetzt. Der Zerfall der Enzyme nimmt mit steigender Temperatur außerordentlich rasch zu, und es gibt eine Temperaturgrenze, bei der die Neubildung gerade noch mit dem Zerfall Schritt halten kann. Diesen Punkt, bei dem die Tätigkeit des Enzyms am stärksten ist, nennen wir die Optimaltemperatur. Bei weiterer Temperatursteigerung ist der Zerfall des Enzyms stärker als die Neubildung, und der schließliche Enzymgehalt

---

[1]) Diese Zeitschr. 72, 364.

ist sehr viel geringer oder wird gar gleich Null; die Zelle stirbt den Hitzetod. Durch die Annahme des beständigen Enzymzerfalls und der Enzymneubildung sind die echte Optimaltemperatur des Wachstums und die „unechte“ Optimaltemperatur der Enzymtätigkeit in Einklang gebracht.

Diese Darstellung ist aber wahrscheinlich zu einfach, denn das enzymbildende Agens hat seinerseits auch wiederum einen Temperaturkoeffizienten. Da eine durch hohe Temperatur getötete Zelle kein Enzym bildet, so ist das enzymbildende Agens durch Hitze zerstörbar. Wenn es bei hohen Temperaturen zerstört wird, müssen wir annehmen, daß es auch bei tieferen Temperaturen zerfällt, wennschon ungleich langsamer. Das enzymbildende Agens verringert sich also dauernd, und die Zelle würde bald erschöpft sein und könnte dann kein Enzym bilden. Dieser Zustand ist undenkbar, wir müssen also annehmen, daß das enzymbildende Agens wieder ersetzt wird durch Neubildung. Ein anderes Agens — nennen wir es Agens dritter Ordnung — bildet das enzymbildende Agens (oder Agens zweiter Ordnung; das Enzym selbst ist das Agens erster Ordnung).

Das Agens dritter Ordnung muß nun aus demselben Grunde thermolabil sein, sich also auch bei normalen Temperaturen zersetzen, muß infolgedessen neugebildet werden von einem Agens vierter Ordnung, das wiederum thermolabil ist. So kann man sich eine lange Reihe von Agenzien denken, von denen jedes von dem Agens der nächsthöheren Ordnung gebildet wird.

Um uns eine Vorstellung über die Natur dieser Agenzien zu machen, können wir folgende Betrachtungen anstellen: Wachstum ist die Bildung von komplizierten Stoffen aus einfacheren. Wachstum ist fast immer ein endothermischer Vorgang, und Wachstum verbraucht Energie. Es wird jetzt recht allgemein angenommen, daß die Synthesen in der Zelle durch Katalysatoren bewirkt werden. Diese unterscheiden sich von den bekannten Katalysatoren durch die Fähigkeit, die bei der Atmung entstehende Betriebsenergie (bei Pflanzen die Lichtenergie) zu verwerten. Es ist sozusagen eine Katalyse von Energiemengen mit Molekülen. Wie dies möglich ist, wissen wir nicht. Vermutlich hängt die Verwertung der Energie beim

Wachstum mit der Anordnung der Moleküle in der Zelle zusammen, denn die zerriebene Zelle zeigt im allgemeinen keine Synthesen.

Das Enzym wird aus irgendwelchen Bestandteilen gebildet durch einen Katalysator, den wir als Agens zweiter Ordnung bezeichnet haben. Die Bestandteile, aus denen das Enzym gebildet wird, interessieren nicht, sie sind Nahrungsfragmente, wahrscheinlich durch Synthesen und Enzymwirkungen in der Zelle schon mehrfach umgemodelt, doch kommt das nicht in Betracht. Wichtig ist für unsere Betrachtung nur der Katalysator, das Agens zweiter Ordnung. Dieser ist thermolabil, also zerfällt er auch bei normaler Temperatur sehr langsam. Er wird neu gebildet aus irgendwelchen Bestandteilen durch einen anderen Katalysator, das Agens dritter Ordnung, und so geht es weiter bis zum Endglied. Alle diese Agenzien mit Ausnahme des Enzyms selbst bewirken Synthesen.

Die Agenzien müssen wohl alle als Katalysatoren aufgefaßt werden, die also durch ihre Tätigkeit nicht verbraucht werden. Ihr Zerfall beruht in ihrer Struktur, nicht in ihrer Wirkung. Im Einklang hiermit steht der bekannte Nachweis von Chick und Martin, daß die Eiweißgerinnung durch Hitze ein Zeitvorgang mit sehr großem Temperaturkoeffizienten ist. So kann 1 Molekül des Agens dritter Ordnung vielleicht die Synthese von 1000 Molekülen des Agens zweiter Ordnung bewirken, ehe es zerfällt, und 1 Molekül dieses zweiten Agens kann vielleicht wieder 1000 Enzymmoleküle bilden, ehe es zersetzt ist. — (Man könnte diese Reihe von Agenzien mit einer Reihe von ineinandergreifenden Zahnradübertragungen vergleichen, bei denen eine kleine Drehung des Endgliedes große Bewegungen am anderen Ende auslöst.) — Die Reihe kann natürlich nicht unendlich sein. Man kann sich ein oder zwei Zwischenglieder denken, man kann einige hundert annehmen, jedenfalls ist ein Endglied, ein Agens letzter Ordnung vorhanden. Dies muß ebenfalls thermolabil sein, zerfällt also auch bei gewöhnlichen Temperaturen allmählich. Ist es ganz zerfallen, so hat damit die Zelle die Fähigkeit der Enzymbildung endgültig verloren. Demnach ist die Enzymbildung jeder Zelle begrenzt durch die Menge des Agens letzter Ordnung in der Zelle.

Was hier für ein Enzym durchgeführt ist, gilt natürlich für alle. Ein jedes hat seine Reihe von Agenzien aufsteigender Ordnung und sein Endglied. Das gleiche gilt auch für die wachstumbewirkenden Agenzien. Die Stoffe, die das Wachstum bewirken, sind als thermolabil anzusehen, da die durch Hitze getötete Zelle keine Synthesen hervorbringt. Diese Stoffe sind sehr wahrscheinlich Katalysatoren, wie sie oben beschrieben wurden, fast alle noch unbekannt, nur die Reduktasen und umkehrbaren Enzyme können als bekannt hierher gerechnet werden. Jedes der wachstumbewirkenden Agenzien hat seine Reihe von Zwischengliedern und sein Endglied. Der ganze Zellmechanismus von Atmung und Wachstum besteht demnach aus einer großen Anzahl von Reihen von verschiedenen thermolabilen Molekülkomplexen. Jede Teilfunktion hat ihre Reihe von Agenzien, jede ist in ihrem Umfange begrenzt durch die Menge und die Zersetzungsgeschwindigkeit ihres Endgliedes, des Agens letzter Ordnung.

Die Begrenzung ist nur einseitig; die Menge des Agens letzter Ordnung bestimmt nur die Menge des Umsatzes, der bestenfalls, unter den günstigsten äußeren Bedingungen, sich vollziehen kann. Unter ungünstigen Bedingungen, z. B. bei zu hoher Temperatur, bei Nahrungsmangel, können das Agens letzter Ordnung oder die Zwischenglieder ungewöhnlich schnell zerfallen, oder sie zersetzen sich, ohne die ihnen zukommende Funktion wegen Mangel an geeignetem Material ausüben zu können.

Die aus diesen Betrachtungen sich ergebende endliche Begrenzung aller Lebensfunktionen erklärt es, daß alle lebenden Organismen eine bestimmte Maximalgröße, eine bestimmte maximale Lebensdauer haben. Die Annahme der Agenzien letzter Ordnung gibt ferner eine Erklärung dafür, wie es möglich ist, daß in einer einzigen Eizelle alle Eigenschaften der Eltern vorhanden sein können, denn die Größe, Form, Farbe und alle anderen Eigenschaften sind ja in der Art und Menge der Agenzien letzter Ordnung gegeben und in einigen wenigen Molekülen „kondensiert“.

Diese Spekulation erklärt das Altwerden und die Normalgröße ohne Zuhilfenahme von Hemmungsstoffen, von schädlichen Stoffwechselprodukten der Zellen, die sich allmählich

anhäufen. Damit ist nicht gesagt, daß deren Existenz und deren Wichtigkeit abgeleugnet werden soll. Ich habe selbst derartige Stoffe in Bakterienkulturen nachgewiesen. In dem komplizierten Zellenbau ist Raum für die Einwirkung beider Prinzipien. Die Erklärung der Altersgrenze durch Hemmungsstoffe allein würde uns die theoretische Möglichkeit geben, durch Beseitigung der schädlichen Stoffe die Altersgrenze beliebig weit hinauszuschieben, während die hier erörterte Theorie ein unabwendbares Lebensende bedingt.

Diese Betrachtungen lassen sich auch auf die Giftwirkung ausdehnen. In meiner bereits erwähnten Arbeit hatte ich die Reiz- und Giftwirkung dadurch zu erklären versucht, daß das Gift als Katalysator zugleich die Tätigkeit wie den Zerfall der Enzyme beschleunigt. Nun mögen einige Gifte vielleicht nur die Agenzien erster Ordnung (Enzyme usw.) katalysieren, andere mögen die Zwischenglieder oder auch die Endglieder in Mitleidenschaft ziehen. Werden nur die Enzyme selbst katalysiert, so ist die Giftwirkung vorübergehend und nicht tiefgreifend. Werden die Endglieder angegriffen, so entsteht ein nie wieder gutzumachender Schaden für die Zelle.

Diese Betrachtungen kann man auch auf viele andere Lebensfunktionen ausdehnen, auf den Unterschied zwischen Zellkern und Zellplasma, auf die Bildung von Antikörpern, auf die Wirkungsweise der Hormone usw. Da es sich hier ausschließlich um Spekulationen handelt, so überlasse ich dies denjenigen Lesern, die diese Theorie für wahrscheinlich halten.

Untersuchungen über den Kohlenhydratstoffwechsel an der überlebenden Kaninchenleber.

Von

J. Abelin.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 1. März 1916.)

Mit 1 Figur im Text.

Henry B. Richardson[1]) hatte im Anschluß an die Arbeiten von Böhm[2]), Loeb[3]), Pletnew[4]) und Tschannen[5]) aus unserem Laboratorium gezeigt, daß an der Schildkrötenleber Pepton und hydrolisiertes Casein eine hemmende Wirkung auf die Glykogenbildung ausübt, ferner daß die Aminosäuren nicht diejenige Wirkung auf die Glykogenbildung offenbarten, wie man nach den Untersuchungen am experimentell diabetischen Tier hätte erwarten können.

Alle diese Untersuchungen regten dazu an, diese Fragen erneut am Säugetier in Angriff zu nehmen.

Ich habe in dieser Absicht auf Anregung von Prof. Asher eine Untersuchung an der überlebenden Kaninchenleber angestellt. Im Anschluß an die Arbeit von Richardson wäre eigentlich zu untersuchen gewesen, ob in der Glykogenbildung in der überlebenden Kaninchenleber ein Unterschied vorhanden wäre, je nachdem in der Durchströmungsflüssigkeit Eiweiß oder die verschiedensten Abbauprodukte, d. h. Produkte, deren Abbau

---

[1]) H. Richardson, diese Zeitschr. **70**, 171.
[2]) Böhm, Zeitschr. f. Biol. **51**.
[3]) Loeb, Zeitschr. f. Biol. **55**.
[4]) Pletnew, diese Zeitschr. **21**, 355.
[5]) Tschannen, diese Zeitschr. **59**, 202.

bis zu einem verschieden hohen Grade gediehen war, sich befanden.

Ehe aber an die Ausführung dieses Vorhabens gedacht werden kann, bedarf es noch einer Reihe von Voruntersuchungen, die der eigentliche Gegenstand meiner nachfolgenden Arbeit sind. Diese Voruntersuchungen führten jedoch zu so bemerkenswerten Ergebnissen, daß ihre Durcharbeitung ein von der obigen Fragestellung ganz selbständiges Interesse besitzt.

Die erste Frage, die in Angriff genommen werden mußte, war die, ob in der überlebenden Kaninchenleber durch Zusatz von Pepton zur Durchströmungsflüssigkeit das Glykogen aus der Leber beseitigt werden könnte. Daß unter bestimmten Versuchsbedingungen und bei bestimmten Tieren Glykogen sogar quantitativ aus der Leber entfernt wird, ist durch die oben genannten Arbeiten ja mit Sicherheit nachgewiesen worden. Nachdem die weiter unten mitzuteilenden Resultate mit peptonhaltigen Flüssigkeiten erhalten worden waren, ergab sich als nächste Forderung, ein anders geartetes Mittel, nämlich Adrenalin, zur Entfernung des Glykogens anzuwenden. Es ist klar, daß, ehe man an Untersuchungen herangehen kann, welche die etwaige Neubildung von Glykogen betreffen, man über Mittel verfügen muß, die mit Sicherheit vorher den Glykogenbestand der Leber aufheben oder sehr vermindern.

Ich beschreibe zunächst die Methode der künstlichen Durchströmung der Kaninchenleber.

Einem Vorschlage von Brodie folgend, wurde die Leber nicht ausgeschnitten, sondern in situ gelassen. Denn dabei bleibt die Leber in der normalen Lage, was aus mechanischen Gründen die Durchströmung günstiger gestaltet. Im einzelnen gestaltete sich der Versuch wie folgt: Das Kaninchen wurde aus den beiden Carotiden entblutet, das Abdomen schnell aufgemacht, die Magen- und Leberarterien, die Milzvene, der Gallengang, die Vena cava infer., sowie die Arterien und Venen oberhalb des Herzens unterbunden. Auch das Herz wurde unterhalb der Vorhöfe fest durchschnürt. Darauf wurde die Durchströmungskanüle in die Vena porta dicht an der Leber und die Abflußkanüle in das rechte Herzohr eingebunden. Auf diese Weise gelingt es, die Leber richtig zu durchströmen, ohne daß die geringste Flüssigkeitsmenge aus irgendeinem Nebenstrom ausfließt.

Da aber die zahlreichen Abbindungen einige Minuten in Anspruch nehmen und die Leber dadurch kurze Zeit ohne Durchströmung bleibt, so wurde nach folgender sehr empfehlenswerter Methode verfahren:

Das Tier wurde tracheotomiert und mit Äther tief narkotisiert. Die Carotiden wurden freigelegt, aber noch nicht angeschnitten, die Porta wurde präpariert, 2 Fäden herumgelegt, angeschnitten, die Kanüle eingeführt und sofort mit dem Durchströmungsapparat verbunden. Erst jetzt wurden die Carotiden angeschnitten, das Tier entblutet, wobei zuletzt die fast farblose Durchströmungsflüssigkeit ausläuft. Inzwischen wurde in das rechte Herzohr die Abflußkanüle eingeführt und das Arterien- und Venensystem oberhalb des Herzens, sowie das Herz selbst unterhalb der Vorhöfe unterbunden. Die Flüssigkeit strömt jetzt pulsierend aus dem rechten Vorhof aus, und die eigentliche Durchströmung beginnt. Alle andern früher erwähnten Abbindungen sind bei dieser Arbeitsweise unnötig.

Die Methode hat den großen Vorteil, daß die Leber dabei keine Kreislaufunterbrechung erleidet.

Bei allen Versuchen wurde die Leber auf einer Temperatur von 35 bis 37° gehalten, der Druck der Durchströmungsflüssigkeit war 25 bis 30 mm Hg.

Die Frage, wie weit der Puls bei Durchströmung von Organen nützlich sei, ist zurzeit wieder in Fluß gekommen. Es kann aber kaum zweifelhaft sein, daß eine rhythmisch pulsierende Durchströmung die physiologischen Verhältnisse nachahmt. Wir haben mit relativ einfachen Mitteln ein künstliches Herz uns geschaffen (Fig. 1). Als Triebkraft diente der erhöhte Luftdruck im Kroneckerschen Atmungsapparat. Der Schaukeltrog desselben unterbricht periodisch den Atmungsstrom in regulierbaren Frequenzen, die sich innerhalb der Grenzen der gewöhnlichen Atmung halten. Hiermit ist eine periodische Unterbrechung des Druckes im Durchströmungssystem gegeben. Ohne weitere Vorrichtung würde aber der Druck in der vorgeschalteten Druckflasche von seinem maximalen Werte auf Null herabsinken. Deshalb wurde zwischen dem Atmungsapparat und der großen vorgelegten Flasche, die zur Aufrechterhaltung eines gewissen, mit Hilfe einer Sauerstoffbombe erzeugten Mittel

druckes dient, ein leicht spielendes Ventil (*a*), ein Atmungsventil, eingeschaltet. Dieses Ventil schloß sofort den Weg nach der großen Vorlageflasche ab, wenn der Druck vom Atmungsapparate her sank. Ein vor der Leber befindliches Manometer zeigte die rhythmischen Schwankungen der Pulse an, die variierbar waren. Die große 10 Liter fassende Flasche steht ihrerseits mit dem einen Tubus einer 3fach tubulierten Woulffschen Flasche in Verbindung. In den gleichen Tubus mündet auch ein langes Zuleitungsrohr (*b*) für den Sauerstoff. In den mittleren Tubus der Flasche kommt ein Fülltrichter (*c*) und ein kurzes Rohr (*d*), das mit dem Hg-Manometer (*e*) verbunden ist. Das bis auf den Boden der Flasche reichende Glasrohr (*f*) des dritten Tubus dient als Abflußrohr und steht durch einen Schlauch mit einem T-förmigen Thermometer (*g*) und mit der Durchströmungskanüle in der Porta in Verbindung. Die tubulierte Flasche befindet sich in einem Wasserbade, das auf konstanter Temperatur gehalten wird.

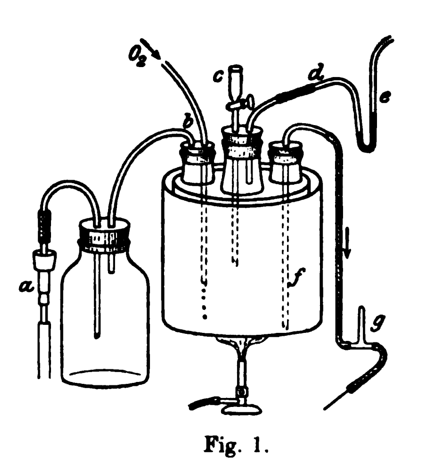


Fig. 1.

Als Durchströmungsflüssigkeit wählte ich eine täglich frisch hergestellte Tyrodelösung, die sich bei allen Untersuchungen im Berner Institut einschlägiger Art bewährt hatte.

In vielen Versuchen habe ich die Zuckermengen in der Durchströmungsflüssigkeit während der einzelnen Versuchsperioden bestimmt. Außerdem wurde am Schlusse der ersten Durchströmungsperiode ein Stück Leberlappen excidiert, um den Anfangsgehalt an Glykogen zu ermitteln.

Glykogen- und Zuckerbestimmung geschahen in der gleichen Weise wie in den früheren Arbeiten unseres Institutes, nämlich nach Pflüger und Bertrand. Die ausführliche Beschreibung findet sich in der Arbeit von Tschannen[1]).

---

[1]) A. Tschannen, diese Zeitschr. **59**, 202, 1914).

Eine erste Frage, die zu erledigen war, war die, wie eine Tyrodelösung bei länger dauernder Durchströmung auf den Glykogengehalt der Leber wirke. Es zeigte sich nun, daß der Glykogenbestand während einer länger dauernden Durchströmung mit dieser Lösung nicht merklich abnahm; außerdem war die Zuckermenge in der Durchströmungsflüssigkeit während längerer Perioden eine derartige, daß sie keinen Anhaltspunkt für eine ungewöhnliche Abnahme des Glykogens darbot. Das geht beispielsweise aus meinem Kontrollversuch, Versuch 1, hervor, wo die Leber ausschließlich mit Tyrodelösung durchströmt wurde, und wo aus den Analysen des Zuckergehaltes der Durchströmungsflüssigkeit sich eine Menge des ausgewaschenen Glykogens von nur 0,494% Glykogen berechnete. Man sieht auch, daß der Zuckergehalt der Durchströmungsflüssigkeit von Periode zu Periode eher etwas abnimmt, im ganzen aber als konstant betrachtet werden kann.

In Versuch 2 und 4 ist eine Bestimmung des Glykogengehaltes der Leber am Schlusse der ersten Periode nach Durchströmung mit zuckerfreier Tyrodelösung gemacht und dann 80 beziehentlich 65 Minuten später nach abermaliger Durchströmung das Glykogen erneut bestimmt worden. Zwar findet sich in beiden Fällen eine Abnahme des Glykogengehaltes, aber sie ist nicht so groß, als daß sie auf einen schädlichen Einfluß der Durchströmung zurückgeführt werden könne, denn der Unterschied beispielsweise in Versuch 4 von 3,50 auf 2,89% fällt nicht sehr ins Gewicht. Um zu untersuchen, ob etwa Durchströmung mit Tyrodelösung weniger günstig wirke als Durchströmung mit einer Blutlösung, wurde in Versuch 3 eine Mischung von Kalbsblut und Tyrodelösung durchströmt. Der Glykogengehalt der Leber am Ende der ersten Periode betrug 3,34, am Ende der 70 Minuten späteren Periode betrug der Glykogengehalt 2,95. Aus diesen Ergebnissen ziehe ich den Schluß, daß die Durchströmung mit Tyrodelösung keine ungünstigen Verhältnisse für die Aufrechterhaltung des Glykogenbestandes der Leber schafft. Ich vermute, daß eine Reihe von Momenten hier mitwirken, nicht zum geringsten wohl die Aufrechterhaltung der normalen Reaktion der Körpersäfte.

Aus den Versuchen 2, 3 und 4 geht hervor, daß unter meinen Versuchsbedingungen eine Synthese des Glykogens nicht

gelingt, weder mit Tyrodelösung noch mit Blutlösung. Es ist dies eine Erfahrung, die schon frühere Autoren an der überlebenden Kaninchenleber gemacht haben. Grube[1]) verdanken wir ausführliche Untersuchungen über diesen Punkt, und er ist nur unter gewissen Ausnahmebedingungen dazu gelangt, Glykogensynthese zu erzielen. Dieses Nichtgelingen war auch die Ursache, weshalb ich zunächst auf diejenigen Probleme eingehen mußte, die Gegenstand dieser Arbeit sind.

In erster Linie interessierte mich die Frage, ob der Zusatz von Pepton zur Durchströmungsflüssigkeit einen Einfluß auf den Glykogenbestand der Kaninchenleber hätte. Wir hatten denselben nach den vorausgegangenen Untersuchungen erwartet. Das Ergebnis jedoch unserer Untersuchungen war ein ganz bestimmtes und entscheidendes in dem Sinne, daß das Pepton keinen Einfluß auf den Glykogenbestand der Leber hat. Ich verfüge über 5 einschlägige Versuche. In den Versuchen 5, 6 und 7 wurde nur fortlaufend der Zuckergehalt der Durchströmungsflüssigkeit untersucht. Würde das Pepton das Glykogen verjagen, so müßte der Zuckergehalt von Periode zu Periode zunehmen. Das war aber nicht der Fall, im Gegenteil, die Konzentration nahm ab. Em Ende der drei Versuche war noch ein merklicher Glykogenbestand in der Leber nachweisbar.

Noch viel beweisender sind aber die Versuche 8 und 9, wo ich am Ende der ersten und am Ende der zweiten Periode den Glykogenbestand der Leber analysierte. In Versuch 8 war voraufgehend das Tier durch Zufuhr von Traubenzucker sehr glykogenreich gemacht worden. Es fanden sich in beiden 7,34 und 7,10 %. In Versuch 9 betragen die Werte 5,52 beziehentlich 4,50 %.

Aus diesen Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß eine Peptonlösung, die, wie Richardson gezeigt hatte, in der Schildkrötenleber den Glykogenbestand wesentlich herabsetzt, keinen Einfluß auf die Kaninchenleber hat. Die Kaninchenleber verhält sich demnach nach meinen Untersuchungen anders wie diejenige der Schildkröte, der Ratte und des Hundes. Es scheint nicht schwer zu sein, nachdem der Tatbestand gesichert worden ist, eine Erklärung für diesen Sachverhalt zu finden.

[1]) Grube, Arch. f. d. ges. Physiol. **106**; **107**; **108**; **118**; **126**.

Er dürfte in der gleichen Richtung liegen, die wir aus andern Erscheinungen über die Beziehungen des Kaninchenorganismus zum Pepton kennen. Das Kaninchen gilt als immun gegen Pepton. Es reagiert nicht mit Ungerinnbarkeit des Blutes und der Lymphe wie der Hund, und es zeigt auch nicht auf Peptoninjektionen hin die Erscheinungen des sogenannten anaphylaktischen Choks, wie eine Reihe anderer Tiere. Da nun diese beiden Symptome unter Mitwirkung der Leber zustande kommen, ist es verständlich, daß Pepton in dieser immunen Leber keine Verjagung des Glykogens hervorruft. Vorausgesetzt, daß diese Betrachtungsweise richtig ist, würde sie darauf hinweisen, daß die Verjagung des Glykogens durch Pepton eine biologische Reaktion des Protoplasmas der Leberzelle ist. Der Vorgang von dieser Art von Glykogenschwund würde nicht eine rein physikalisch-chemische Fermentreaktion sein, sondern es hätte eine physiologische Komponente daran Anteil.

Wenn Pepton die geschilderte Wirkung hat, so ist es nicht zu verwundern, daß auch die Wirkung von Erepton nicht derart ist, daß sie die Leber etwa glykogenfrei macht. Versuch 10, der mit Erepton angestellt wurde, zeigt, daß am Ende die Leber 4,59% Glykogen enthielt. Bemerkenswert ist nur, daß gerade in diesem Versuche eine etwas größere Menge von Glykogen als sonst ausgewaschen wurde. Ich bin dieser Tatsache nicht weiter nachgegangen, weil alle bisherigen Erfahrungen mit Erepton sie als eine mehr zufällige erscheinen lassen.

Nachdem ich die etwas unerwartete Tatsache bei Durchströmung mit Pepton gefunden hatte, ging ich dazu über, den Einfluß des Zusatzes von Adrenalin zur Durchströmungsflüssigkeit zu prüfen. Adrenalin macht, wie wir durch die wichtigen Untersuchungen von Blum[1]) wissen, subcutan injiziert, die Leber glykogenfrei und das Blut hyperglykämisch, und die Untersuchungen von Ritzmann[2]) in Straubs Laboratorium haben uns über den Mechanismus dieser Adrenalinwirkung bei intravenöser Injektion aufgeklärt. Es stand daher zu erwarten, daß der Zusatz von Adrenalin zur Durchströmungsflüssigkeit den Glykogenbestand der Leber erheblich vermindern würde.

---

[1]) Blum, Deutsches Arch. f. klin. Med. **71**, 1901.

[2]) Ritzmann, Münch. med. Wochenschr. **1909**; A. P. P. **61**, 231, 1909.

Auch hier wiederum war das Resultat meiner Versuche ein den Erwartungen nicht entsprechendes. Denn erstens zeigte sich, daß während der Durchströmung der Leber mit adrenalinhaltiger Tyrodelösung der Zuckergehalt der Perfusionsflüssigkeit nicht anders war, als wenn die Lösung adrenalinfrei gewesen wäre. Dies geht aus meinen Versuchen 11 und 12 hervor. Versuch 12 zeigt, daß der Glykogengehalt der Leber vor und nach der Durchströmung mit adrenalinhaltiger Lösung sich nicht anders verhielt, als wie in den voraufgehenden Versuchen mit einfacher Tyrodelösung, denn der Prozentgehalt an Glykogen beträgt 7,26, beziehentlich 6,21.

Das Resultat meiner Versuche ist demnach, daß Adrenalin in Dosen, wo es subcutan oder intravenös angewandt mit Sicherheit glykogenverjagend wirkt, durch die überlebende Leber perfundiert versagt. Diese Tatsache bietet auf den ersten Blick der Erklärung große Schwierigkeit. Aber es scheint, daß es Anhaltspunkte dafür gibt, um einen Weg der Erklärung zu finden. In erster Linie denke ich an die interessanten Beobachtungen von Hofmeister, der zeigen konnte, daß der histophysiologische Mechanismus des Glykogenschwundes nach Splanchnicusreizung und infolge von Hunger ein im histologischen Bilde durchaus verschiedener war. Ferner scheint es, daß eine sehr bemerkenswerte Beobachtung von Macleod und Pearce[1]) hier heranzuziehen ist. Diese Forscher fanden nämlich, daß zwar sowohl die Reizung des Nervus splanchnicus wie auch die Reizung der Portalnerven selbst Glykogenabnahme in der Leber hervorruft, jedoch nach Entfernung der Nebennieren die Reizung der Portalnerven nicht mehr zur Abnahme des Glykogens in der Leber führt. Aus diesen Tatsachen scheint mir der Schluß zu folgen, daß die Entfernung des Glykogens aus der Leber unter dem Einflusse von Adrenalin auf einem besonderen biologischen Mechanismus beruht. Es scheint, daß der gleiche Grund, der ein Versagen der Glykogensynthese in der überlebenden Kaninchenleber verursacht, mit im Spiele ist, wenn Adrenalin in der überlebenden Leber das Glykogen nicht zu verjagen vermag. Die Tatsache, daß das Glykogen

---

[1]) Macleod und Pearce, Proceed. Soc. Experim. Biol. and Med. 8, 19 bis 21.

erhalten bleibt, beweist, daß ein gewisser Grad von Vitalität den Leberzellen in meinen Versuchen innewohnt. Denn wäre dieser nicht vorhanden, so müßte es ja unbedingt zum Glykogenschwund kommen.

Es wird Aufgabe einer nachfolgenden Untersuchung sein, die Fähigkeit der überlebenden Kaninchenleber zur Synthese mit neuen Methoden näher zu untersuchen. Dann wird auch Gelegenheit sein, darauf zurückzukommen, inwieweit die von mir aufgestellten Annahmen, daß die Widerstandsfähigkeit der überlebenden Kaninchenleber gegen den Einfluß von Pepton und Adrenalin auf besonderen biologischen Mechanismen beruhe, zutreffend sind.

Versuch 1.

Durchströmung mit Tyrodelösung. In den ersten 13 Min. wurden 550 ccm Flüssigkeit durchströmt (Flüssigkeit 1). In den nachfolgenden 17 Min. — 400 ccm (Flüssigkeit 2), in weiteren 20 Min. — 405 ccm (Flüssigkeit 3). Temperatur der Durchströmungsflüssigkeit 38°, Druck 25 mm Hg, Temperatur der Leber 34°. Nach Schluß der Durchströmung wurde die Leber ausgeschnitten und das Glykogen quantitativ bestimmt. Gewicht der Leber 73,5 g.

Analysen. 20 ccm der Tyrodelösung verbrauchten 4,3 ccm der Bertrandschen Kaliumpermanganatlösung; Kontrollversuch — 4,10 ccm $KMnO_4$. Mittel — 4,2 ccm. Zuckergehalt 0,104 %.

Flüssigkeit 1. Enteiweißt nach Rona. 100 ccm der Lösung wurden mit 12 ccm kolloidal. $Fe(OH)_3$ (Merck) + 13 ccm H_2O versetzt. 20 ccm des eiweißfreien Filtrates verbrauchten 4,6 ccm $KMnO_4$. Kontrolle — 4,7 ccm $KMnO_4$. Mittel — 4,65 ccm. Zuckergehalt — 0,145 %.

Flüssigkeit 2. Enteiweißen nach Rona. 100 ccm + 12 ccm kolloidal. $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O. 20 ccm des Filtrates verbrauchten 4,2 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,1 ccm $KMnO_4$. Mittel 4,15 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,129 %.

Flüssigkeit 3. Enteiweißen nach Rona. 100 ccm + 12 ccm kolloidal. $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O. 20 ccm des Filtrates verbrauchten 3,9 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,0 ccm. Mittel — 3,95 ccm. Zuckergehalt 0,122 %.

Analyse des Glykogens nach der Methode von Pflüger. Verdünnt auf 500 ccm. 20 ccm dieser Verdünnung verbrauchten

7,60 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 7,90 ccm. Mittel 7,75 ccm. Glykogengehalt 1,251 %.

Versuch 2.

Durchströmung mit zuckerfreier Tyrodelösung (Flüssigkeit 1), dann Abbindung des rechten Leberlappens und Durchströmung mit Tyrode + ca. 1 % Zucker (Flüssigkeit 2). Glykogenanalyse im Leberlappen und in der Leber. $t = 38°$; $p = 25$ mm.

Flüssigkeit 1. Durchströmungsdauer 1 Stunde, Menge 1050 ccm. Enteiweißen nach Rona: 100 ccm + 12 ccm kolloidal. $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O; 20 ccm des Filtrates, $KMnO_4$ — 0,8 ccm, 0,65 ccm. Mittel 0,725 ccm. Zuckergehalt 0,021 %.

Flüssigkeit 2. Durchströmungsdauer 80 Min., Menge 920 ccm. Enteiweißt nach Rona: 100 ccm + 12 ccm $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O; 10 ccm des Filtrates wurden auf 100 ccm verdünnt und 20 ccm dieser Flüssigkeit analysiert. Verbrauch von $KMnO_4$-Lösung 2,80 ccm. Zuckergehalt 0,86 %.

Analyse der Tyrodelösung vor der Leberdurchströmung: 10 ccm der Lösung auf 100 ccm verdünnt, 20 ccm verbrauchten 3,5 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,864 %.

Glykogenanalyse des abgebundenen Leberlappens. Gewicht des Lappens 17,5 g. Verdünnung auf 100 ccm, 10 ccm verbrauchten 8,65 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 2,428 %.

Glykogenanalyse der Leber. Gewicht 42,5 g. Verdünnung auf 100 ccm, 10 ccm verbrauchten 13,9 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 1,674 %.

Versuch 3.

Leberdurchströmung mit Kalbsblut + Tyrode (1 : 1), Abbindung des r. Leberlappens, Durchströmung mit Kalbsblut + Tyrode (1 : 1) + 0,75 % Zucker. Die erste Durchströmung dauerte 65 Min., die durchströmte Menge betrug 800 ccm. Dauer der zweiten Durchströmung 70 Min., Menge 550 ccm. $t = 35°$, $p = 27$ mm Hg.

Glykogenanalyse des Leberlappens. Gewicht 17,3 g, Verdünnung auf 250 ccm, 20 ccm verbrauchten 9,4 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 3,34 %.

Glykogenanalyse der Leber. Gewicht 41 g, Verdün-

nung auf 500 ccm, 20 ccm wurden titriert; Verbrauch an $KMnO_4$ 10,00 ccm. Glykogengehalt 2,953%.

Versuch 4.

Während 55 Min. Durchströmung mit zuckerfreier Tyrodelösung. Durchströmte Menge 1400 ccm. Abbindung des r. Leberlappens und Durchströmung mit ca. 1% zuckerhaltiger Tyrodelösung (750 ccm) während 65 Min. $t = 37$ bis 38°, $p = 25$ mm.

Glykogenanalyse des Leberlappens. Gewicht 17,5 g, Verdünnung auf 250 ccm. Titration von 20 ccm; $KMnO_4$ 10,0 ccm. Glykogengehalt 3,50%.

Glykogenanalyse der Leber. Gewicht 32,5 g, 500 ccm. 20 ccm verbrauchten 7,92 ccm $KMnO_4$-Lösung. Glykogengehalt 2,89%.

Versuch 5.

Zuerst Durchströmung mit Tyrodelösung (Flüssigkeit 1), dann mit Tyrode + 2% Pepton (Flüssigkeit 2). $p = 18$ bis 20 mm, die Temperatur stieg zeitweise über 40°.

Analysen. Flüssigkeit 1. Durchströmungsdauer 25 Min., Menge 530 ccm. Enteiweißen nach Rona: 200 ccm wurden mit einer Verdünnung von 20 ccm $Fe(OH)_3$ koll. auf 150 ccm H_2O versetzt; 50 ccm des Filtrates verbrauchten 11,65 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 11,50 ccm $KMnO_4$. Mittel 11,57 ccm. Zuckergehalt 0,214%.

Tyrodelösung vor der Leberdurchströmung. 20 ccm verbrauchten 4,30 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,35, 4,30 ccm. Zuckergehalt 0,1075%.

Flüssigkeit 2. Durchströmungsdauer 20 Min., Menge 700 ccm. Enteiweißen nach Schenck: 150 ccm Lösung + 75 ccm 2% HCl + 75 ccm 5% $HgCl_2$. 50 ccm des Filtrates verbrauchten 4,40 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,55 ccm. Mittel 4,47 ccm. Zuckergehalt 0,09%.

Peptonhaltige Tyrodelösung vor der Leberdurchströmung; Enteiweißen nach Schenck: 150 ccm + 75 ccm 2% HCl + 75 ccm 5% $HgCl_2$. 50 ccm des Filtrates verbrauchten 3,40 ccm. Kontrolle 3,15 ccm. Mittel 3,28 ccm. Zuckergehalt 0,065%.

Glykogenanalyse der Leber. Gewicht 82 g, Verdün-

nung auf 500 ccm. 20 ccm verbrauchten 4,90 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 5,00 ccm. Glykogengehalt 0,701 %.

Versuch 6.

Zuerst Durchströmung mit Tyrode (Flüssigkeit 1), dann mit Tyrode + 2 % Pepton (Flüssigkeit 2). $t = 35°$. $p =$ 25 mm Hg.

Flüssigkeit 1. Dauer der Durchströmung 22 Min., Menge 630 ccm. Enteiweißen nach Rona: 100 ccm + 12 ccm koll. $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O. 20 ccm; 5,80 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 5,80 ccm. Zuckergehalt 0,182 %.

Tyrodelösung vor der Durchströmung; 20 ccm verbrauchten 4,4 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,3 ccm. Zuckergehalt 0,107 %.

Flüssigkeit 2. Dauer der Durchströmung 15 Min., Menge 550 ccm. Enteiweißen nach Schenck: 100 ccm + 100 ccm 2 % HCl + 100 ccm 5 % $HgCl_2$. 50 ccm des Filtrates verbrauchten 2,9 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 2,8 ccm. Mittel 2,85 ccm. Zuckergehalt 0,099 %.

Peptonhaltige Tyrodelösung vor der Durchströmung: 100 ccm + 100 ccm 2 % HCl + 100 ccm 5 % $HgCl_2$. 50 ccm verbrauchten 3,5 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 2,9 ccm. Zuckergehalt 0,090 %.

Glykogenanalyse. Gewicht der Leber 91 g. Verdünnt auf 500 ccm. 20 ccm verbrauchten 8,4 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 8,8 ccm. Mittel 8,6 ccm. Glykogengehalt 1,13 %.

Versuch 7.

Durchströmung mit Pepton (2 %), aufgelöst in zuckerfreier Tyrodelösung (Flüssigkeit 1), dann Abbindung des r. Leberlappens und Durchströmung mit einer ca. 0,5 % Zucker enthaltenden Tyrodelösung (Flüssigkeit 2). $t = 37°$; $p = 27$ mm.

Flüssigkeit 1. Menge 1050 ccm. Enteiweißung nach Patéin und Dufau. 100 ccm Flüssigkeit + 30 ccm $Hg(NO_3)_2$ + verd. NaOH, aufgefüllt auf 150 ccm. 20 ccm des Filtrates verbrauchten 2,55 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 2,50 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,0927 %.

Flüssigkeit 2. Menge 1025 ccm. Enteiweißung nach Rona. 100 ccm + 12 ccm $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O. 5 ccm des Filtrates verbrauchten 3,55 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 3,55 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,4622 %.

Tyrodelösung v o r der Durchströmung: 5 ccm verbrauchten 4,8 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,6 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,469%.

Glykogenanalyse. Gewicht der Leber 50 g. Verdünnung auf 500 ccm. 10 ccm verbrauchten 7,0 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 6,85 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 3,27%.

Versuch 8.

Durchströmung wie in Versuch 7. $t = 37°$; $p = 25$ mm Hg.

Flüssigkeit 1 (peptonhaltige Tyrodelösung nach Leberdurchströmung). Enteiweißung nach Patéin und Dufau. 100 ccm + 30 ccm $Hg(NO_3)_2$ + verd. Alkali, aufgefüllt auf 150 ccm. 20 ccm des Filtrates verbrauchten 2,9 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,1069%.

Analyse des abgebundenen r. Leberlappens: Gewicht 24 g. Verdünnung auf 250 ccm. 10 ccm verbrauchten 14,05 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 7,34%.

Leber. Gewicht 50,5 g. Verdünnung auf 500 ccm. 10 ccm verbrauchten 14,4 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 7,10%.

Versuch 9.

Durchströmung wie in den Versuchen 7 und 8. $t = 39°$, $p = 27$ mm Hg. Von der 2%-Peptonlösung wurden 1025 ccm durchströmt, von der 0,5% Zucker enthaltenden Tyrodelösung 1150 ccm.

R. Leberlappen. Gewicht 20,5 g, verdünnt auf 250 ccm. 10 ccm verbrauchten 9,4 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 9,4 ccm. Glykogengehalt 5,52%.

Leber. Gewicht 43 g. 10 ccm der auf 500 ccm verdünnten hydrolysierten Lösung verbrauchten 8,05 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 8,2 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 4,5%.

Versuch 10.

Durchströmung mit 2% Erepton in Tyrodelösung (Flüssigkeit 1), dann mit zuckerhaltiger Tyrode (Flüssigkeit 2), zuletzt wieder mit 2% Erepton (Flüssigkeit 3). $t = 38$ bis $39°$, $p = 25$ bis 30 mm Hg, Temperatur der Leber 35,5 bis 36,5°.

Flüssigkeit 1. Menge 580 ccm. Enteiweißt nach Patéin und Dufau. 100 ccm + 25 ccm $Hg(NO_3)_2$ + verd. Alkali, auf-

gefüllt auf 150 ccm. 20 ccm des Filtrates verbrauchten 5,90 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 6,00 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,225 %.

Flüssigkeit 2. Menge 550 ccm. Enteiweißt nach Rona, 100 ccm + 12 ccm $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O. 20 ccm verbrauchten 5,60 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 5,65 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,176 %.

Flüssigkeit 3. Menge 525 ccm. Enteiweißung: 100 ccm + 25 ccm $Hg(NO_3)_2$ + verd. Alkali, auf 150 ccm aufgefüllt. 20 ccm verbrauchten 4,9 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,75 ccm $KMnO_4$, Zuckergehalt 0,1808 %.

Tyrodelösung vor der Leberdurchströmung: 20 ccm verbrauchten 3,75 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 3,75 ccm. Zuckergehalt 0,0929 %.

Ereptonlösung vor der Leberdurchströmung: 100 ccm + 25 ccm $Hg(NO_3)_2$ + verd. Alkali, auf 150 ccm aufgefüllt. 20 ccm verbrauchten 3,87 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,096 %.

Leber. Gewicht 73 g. Verdünnung auf 500 ccm. 5 ccm verbrauchten 7,0 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 7,20 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 4,59 %.

Versuch 11.

8 ccm Adrenalin (1:1000) wurden mit 1280 ccm Tyrodelösung verdünnt, 1200 ccm dieser Lösung wurden durch die Leber durchströmt (Flüssigkeit 1). Der r. Leberlappen wurde abgebunden und die Leber mit einer ca. 1 % Zucker enthaltenden Tyrodelösung durchströmt (1500 ccm).

Flüssigkeit 1. 100 ccm + 12 ccm koll. $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O. 20 ccm verbrauchten 4,30 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 4,25 ccm. Zuckergehalt 0,133 %.

Leber. Gewicht 45 g. Verdünnung 500 ccm. 10 ccm verbrauchten 6,45 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 6,25 ccm. Mittel 6,35 ccm. Glykogengehalt 2,4 %.

Versuch 12.

Das Tier hat 10 Stunden vor dem Versuch 4 g Traubenzucker per os erhalten. Durchströmung mit Tyrode (740 ccm) (Flüssigkeit 1), dann Abbindung des r. Leberlappens und Durchströmung mit einer adrenalinhaltigen Tyrodelösung (10 ccm Adrenalin 1:1000 auf 800 ccm Tyrode) (Flüssigkeit 2). $t = 37$ bis 38°, $p = 25$ mm Hg; t der Leber 37,5°.

Flüssigkeit 1. 100 ccm + 12 ccm $Fe(OH)_3$ + 13 ccm H_2O. 20 ccm verbrauchten 7,95 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,2553%.

Flüssigkeit 2. 100 ccm + 12 ccm $Fe(OH)_3$ + 13 ccm

Versuch	Versuchsanordnung	Durchströmungsflüssigkeit	Dauer der Durchströmung Min.	Zuckergehalt der Durchströmungsflüssigkeit vor der Durchström. %	nach der Durchström. %	Vermehrg. d. Zuckergehaltes nach Durchströmung der Leber %	Absolute Menge des aus der Leber ausgewaschenen Zuckers g	Menge des ausgewasch. Glykogens %[1]	Glykogengehalt des Leberlappens %	Glykogengehalt der Leber %
1	Durchströmung von Tyrodelösung in bestimmten Zeitintervallen	Tyrode	13	0,104	0,145	0,039	0,2145	0,494	—	1,251
		Tyrode	17	0,104	0,129	0,025	0,100			
		Tyrode	20	0,104	0,122	0,019	0,077			
2	Durchströmung mit zuckerfreier Tyrode; dann Abbindung des r. Leberlappens; Durchströmung mit Tyrode + ca. 1% Zucker	Zuckerfreie Tyrode	60	0	0,021	0,02	0,22	0,34	2,428	1,674
		Tyrode + ca. 1% Zucker	80	0,8640	0,8594	—	—			
3	Durchströmung mit Kalbsblut, zur Hälfte mit Tyrode verdünnt; Abbindung des r. Leberlappens; Durchströmung mit Kalbsblut + Tyrode (50%) + 0,75% Zucker	Blut + Tyrode	65	—	—	—	—	—	3,34	2,95
		Blut + Tyrode + 0,75% Zucker	70	—	—	—	—			
4	Zuerst Tyrode ohne Zucker, dann Tyrode + 1% Zucker	Zuckerfreie Tyrode	55	—	—	—	—	—	3,50	2,89
		Tyrode + 1% Zucker	65	—	—	—	—			
5	Als Durchströmungsflüssigkeit diente zuerst Tyrodelösung, dann Tyrodelösung versetzt mit 2% Pepton	Tyrode	25	0,1075	0,2140	0,1065	0,864	0,98	—	0,701
		Tyrode + 2% Pepton	20	0,065	0,090	0,025				
6	Wie im Versuch 5	Tyrode	22	0,107	0,182	0,075	0,519	0,52	—	1,13
		Tyrode + 2% Pepton	15	0,099	0,090	0,009				

[1]) Die in dieser Kolonne befindlichen Zahlen wurden durch Umrechnung der total ausgewaschenen Zuckermenge in Glykogen erhalten. Dabei wurde angenommen, daß der gesamte in der durchströmten Flüssigkeit vorhandene Zucker durch allmähliche Spaltung des Glykogens entstanden ist (was allerdings nicht bewiesen ist).

Versuch	Versuchsanordnung	Durchströmungsflüssigkeit	Dauer der Durchströmung Min.	Zuckergehalt der Durchströmungsflüssigkeit vor der Durchström. %	nach der Durchström. %	Vermehrg. d. Zuckergehaltes nach Durchströmung der Leber %	Absolute Menge des aus der Leber ausgewaschenen Zuckers g	Menge des ausgewasch. Glykogens %	Glykogengehalt des Leberlappens %	Glykogengehalt der Leber %
7	Zuerst wurde eine zuckerfreie Tyrodelösg., versetzt mit 2% Pepton, durchströmt, dann wurde der r. Leberlappen abgebunden und die Leber mit Tyrode + 0,5% Zucker durchströmt	2% Pepton in zuckerfreier Tyrode	44	0	0,0927	0,0927	0,973	1,94	—	3,27
		Tyrode + 0,5% Zucker	50	0,469	0,462	—				
8	Wie im Versuch 7.	Zuckerfreie Tyrode + 2% Pepton	55	0	0,1069	0,1069	1,154	1,44	7,34	7,10
		Tyrode + 0,5% Zucker	48	—	—	—				
9	Wie in Versuch 7 und 8.	Zuckerfreie Tyrode + 2% Pepton	60	—	—	—	—	—	5,52	4,50
		Tyrode + 0,5% Zucker	60	—	—	—	—	—		
10	Zuerst wurde eine 2% Pepton enthaltende Tyrodelösung, dann reine Tyrodelösung und zuletzt wieder die 2% Erepton enthaltende Tyrodelösung durchströmt	Tyrodelösg. + 2% Erepton	20	0,096	0,225	0,129	0,7482	2,12	—	4,59
		Tyrodelösg.	25	0,0929	0,1760	0,0831	0,4565			
		Tyrodelösg. + 2% Erepton	20	0,096	0,1808	0,0879	0,4620			
11	Zuerst wurde eine adrenalinhaltige, zuckerfreie Tyrodelösung (8 ccm Adrenalin 1:1000 auf 1280 ccm Tyrode), dann eine 1% Zucker enthaltende Tyrodelösung durchströmt	Zuckerfreie Tyrode + Adrenalin	70	0	0,133	0,133	1,596	2,29	—	2,4
		Tyrode + 1% Zucker	30	—	—	—				
12	Durchströmung mit Tyrode; Abbindung des r. Leberlappens; Durchströmung mit Adrenalin-Tyrode (10 ccm 1:1000 Adrenalin auf 800 ccm Tyrode)	Tyrode	37	0,096	0,2553	0,1593	1,18	1,14	7,26	6,21
		Tyrode + Adrenalin	45	0,096	0,2164	0,1204	0,915	1,30		

H_2O. 20 ccm verbrauchten 6,8 ccm $KMnO_4$. Zuckergehalt 0,2164%.

R. Leberlappen. Gewicht 30 g. Verdünnung auf 250 ccm. 10 ccm verbrauchten 17,00 ccm $KMnO_4$. Kontrolle 16,85 ccm. Glykogengehalt 7,26%.

Leber. Gewicht 66 g. Verdünnung auf 500 ccm. 10 ccm verbrauchten 16,05 ccm $KMnO_4$. Glykogengehalt 6,214%.

Der besseren Übersicht wegen sind die Ergebnisse dieser Versuche in vorstehender Tabelle auf Seite 262 und 263 zusammengestellt.

Die wesentlichen Resultate der vorstehenden Arbeit sind die folgenden:

1. Durchströmung der überlebenden Kaninchenleber mit Tyrodelösung kann als eine günstige bezeichnet werden, insofern der Glykogenbestand der Leber im wesentlichen erhalten bleibt.

2. Pepton, der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt, vermag den Glykogenbestand der Kaninchenleber nicht zu mindern. Diese Tatsache wird in Zusammenhang gebracht mit anderen bekannten Immunitätserscheinungen des Kaninchenorganismus gegen Pepton.

3. Adrenalin, der Durchströmungsflüssigkeit zugesetzt, vermag nicht das Glykogen aus der Kaninchenleber zu verjagen. Diese Tatsache wird dadurch zu erklären versucht, daß der Glykogenschwund infolge Adrenalininjektion am Gesamtorganismus ein vitaler Vorgang sei, der bei der überlebenden Kaninchenleber ebensowenig erhalten geblieben ist, wie die Synthese von Glykogen. Andererseits beweist die Widerstandsfähigkeit der Leber gegen die Minderung des Glykogenbestandes einen hohen Grad von Vitalität.

Die oligodynamische Wirkung des Kupfers.[1])

Ein Beitrag zur Lehre vom Antagonismus.

Von

K. Spiro.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg i. Els.)

(Eingegangen am 3. März 1916.)

Mit 1 Tafel.

Vor einigen Jahren hat im Laboratorium von J. Loeb G. Bullot[2]) Untersuchungen über die Giftigkeit des destillierten Wassers gegen Gammarus angestellt. Er fand dabei, daß die Giftigkeit dieses Wassers aufgehoben werden kann durch ganz kleine Mengen von Natriumchlorid, daß aber zur Entgiftung solchen Wassers, das in Kupfergefäßen destilliert worden war, eine größere Menge Natriumchlorid nötig ist als für solches, das in Jenenser Glas destilliert war; z. B. ist eine Lösung, die 8 : 100000 m-Salz enthält, wenn das Wasser über Kupfer destilliert war, nicht so entgiftend wie eine Lösung, die 2 : 100000 m-Salz enthält, wenn das Wasser in Glas destilliert war. In ersterer Lösung lebten nach 10 Tagen nur 15%, der Tierchen, in letzterer dagegen 50%.

Nachdem J. Loeb[3]) in den letzten Jahren für zahlreiche Salze und speziell für Kationen einen Antagonismus festgestellt hat, liegt es nahe, — und Hans H. Meyer[4]) hat dies meines Wissens zuerst getan — auch die Bullotschen Versuche in

[1]) Zweite Mitteilung. Die erste Mitteilung erschien in der Münch. med. Wochenschr. 1915. S. 1601.

[2]) Univers. of California Publ. 1, 199, 1904.

[3]) Dynamik der Lebenserscheinungen, Leipzig 1906.

[4]) Lehrbuch der exper. Pharmakologie (mit R. Gottlieb) 2. Aufl. S. 516.

dieser Art zu erklären und in ihnen einen Hinweis darauf zu sehen, daß bezüglich der Giftwirkung zwischen Natrium und Kupfer ein ähnlicher Antagonismus besteht, wie er zwischen Natrium und Kalium resp. Calcium und Magnesium nachgewiesen ist. Man kann hierfür anführen, daß das Kupfer in der ersten Reihe des periodischen Systems der Elemente unmittelbar auf das Kalium folgt, und daß somit ein Antagonismus Natrium gegen Kupfer an die Seite zu stellen wäre dem Antagonismus der negativen Elemente Chlor und Brom. Immerhin ist zu bedenken, daß eine große chemische Verschiedenheit zwischen Natrium und Kupfer besteht, zumal das Kupfer im Organismus als zweiwertiges Element reagiert.

Es schien von Interesse, diesem Problem nachzugehen, da man so vielleicht über die Frage des Antagonismus der Ionen eine weitere Aufklärung zu erhalten hoffen konnte. Bei dem physiologischen Antagonismus, z. B. dem zwischen Atropin und Muscarin, haben wir eine solche Fülle der Möglichkeiten, daß die Klarlegung des Problems außerordentlich schwierig ist, bei dem Antagonismus der anorganischen Verbindungen aber liegen die Verhältnisse relativ einfacher, und soweit man sie bisher überblicken kann, legen sie die Schlußfolgerung nahe, daß wir bei diesem Antagonismus zwei ganz verschiedene Arten vor uns haben. Als echten Antagonismus möchte ich ausgehend von der Etymologie des Wortes ἀγωνίζεσθαι = kämpfen, alle jene Vorgänge zusammenfassen, bei denen die Wirksamkeit des einen Stoffes durch den anderen Stoff geändert wird, wo also die beiden Stoffe direkt aufeinander wirken. Diesem Antagonismus gegenüber, den man vielleicht kurz als Ionen-Antagonismus bezeichnen kann, möchte ich als scheinbaren oder Pseudo-Antagonismus alle jene Fälle zusammenfassen, bei denen zwei Stoffe sich gegenseitig in bezug auf einen dritten verdrängen können. Für diesen letzteren Fall haben wir zahlreiche chemische Analogien; so kann das Chlor das Brom in den sauren Lösungen der Bromide ersetzen, resp. ihm die elektrische entziehen und an sich reißen, auch all die zahlreichen Beobachtungen, die in den letzten Jahren von Loeb gemacht worden sind, sind zum großen Teil solche Verdrängungsreaktionen. Man könnte diesen Antagonismus, entstanden durch Änderung des physikalischen Gleichgewichts, resp.

durch Massenwirkung auch als Antiergismus bezeichnen, da er gewissermaßen den Gegensatz darstellt zum Synergismus[1]), bei dem zwei Stoffe sich in ihrer Wirkung auf einen dritten gegenseitig stärken oder steigern. Von ihm ist aber, wie schon hervorgehoben, ganz verschieden der echte Antagonismus, dessen klassisches Beispiel der Gegensatz zwischen Wasserstoff- und Hydroxylionen ist, oder ganz allgemein ausgedrückt: echte antagonistische Reaktionen sind solche chemische Reaktionen, bei welchen die beiden Antagonisten aus der Lösung ausscheiden, sei es nun, daß sie beide eine unlösliche Verbindung geben, oder sei es, daß sie in eine nichtionisierte lösliche Verbindung übergehen. Man kann sagen: der echte Antagonismus beruht auf einer Entionisierung. Antagonisten in diesem Sinne sind also nicht bloß Baryumchlorid und Natriumsulfat, sondern in diesem Sinne besteht auch ein Antagonismus zwischen Quecksilberchlorid und Natriumchlorid. Die desinfizierende Wirkung des ersten Salzes wird durch das zweite gehemmt, weil sich teilweise ein komplexes Salz bildet mit komplexen und weniger wirksamen Quecksilberionen, d. h. jedes Entionisierungsmittel kann zu einem Antagonismus führen. Auch für Kupfer gibt es solche entionisierende Stoffe, da das Kupfer bei seiner geringen Elektroaffinität leicht komplexe Salze bildet. Ein besonders lehrreiches Beispiel ist die Komplexsalzbildung mit Thiosulfat, eine Association der beiden Moleküle, die zu einer Wirkungsminderung der Kupfersalze führt, wie man aus dem beifolgenden Protokolle sehen kann.

I.		II.	
0,5 ccm	$CuSO_4$ 10 %	0,5 ccm	$CuSO_4$ 10 %
1,5 "	$Na_2S_2O_3$ 25 %	1,5 "	Wasser
0,5 g	Glykose	0,5 g	Glykose
1,0 g	Hefe	1,0 g	Hefe
8,0 ccm	Wasser	8,0 ccm	Wasser.

Versuch II zeigt deutlich verzögerte Gärung gegen I.

---

[1]) Richtiger wäre Antiergasmus und Synergasmus, ebenso wie man von ἐργάζεσθαι ableitend auch Synergasten und Antiergasten sagen müßte; doch hat sich die falsche Form Synergisten schon einmal eingebürgert.

I.		II.	
1,0 ccm	$CuSO_4$ 25 %	1,0 ccm	$CuSO_4$ 25 %
3,0 „	$Na_2S_2O_3$ 25 %	3,0 „	Wasser
0,5 g	Glykose	0,5 g	Glykose
0,5 g	Hefe	0,5 g	Hefe
6,0 ccm	Wasser	6,0 ccm	Wasser.

Bei Versuch II findet gar keine Gärung statt. Ein Kontrollversuch ohne Kupfer mit Thiosulfat zeigte, daß letzteres Salz die Gärung nicht hemmt.

Durch die Bildung komplexer Kupferionen glaubte ich auch in einer vorangehenden Arbeit die Auflösung des Kupfers und seine oligodynamische Wirkung erklären zu können. Die zur Entstehung von Kupferionen aus metallischem Kupfer nötige freie Energie wird durch die Komplexbildung außerordentlich herabgesetzt, und der Vorgang der Lösung des Kupfers namentlich bei Gegenwart von Sauerstoff stark begünstigt. In den Zellen ist, wie ich in der vorangehenden Arbeit zeigte, eine Reihe von Stoffen vorhanden, die mit Kupfer komplexe Salze bilden und dadurch den osmotischen Gegendruck elementarer Kupferionen herabdrücken können, so daß es fortdauernd zu einer Ionisation des metallischen Kupfers und damit zu dessen Lösung und Giftwirkung kommen kann.

Wie weit ist unter Zugrundelegung dieser Auffassung eine Beeinflussung der oligodynamischen Kupferwirkung durch Salze, speziell Natriumchlorid, zu erwarten? Ist der von Bullot gezeigte Antagonismus zwischen Natrium und Kupfer ein echter Antagonismus oder nur ein Pseudoantagonismus, d. h. ein Verdrängungsphänomen, ein „Antiergismus"?

Ich habe schon in meiner ersten Arbeit darauf hingedeutet, daß bei der Einwirkung der Ammoniumsalze auf die Lösung des Kupfers in Wasser ein Hinweis auf andere Erfahrungen mit Salzlösungen zu erkennen war. Hofmeister hat bekanntlich die verschiedenen Neutralsalze in ihrer Wirkung auf Quellung, Eiweißfällung usw. verglichen; er gelangte dabei für die Anionen und Kationen zu einer bestimmten Reihenfolge, die sich dann auch in spätern Untersuchungen bei einer großen Zahl von physikalisch-chemischen und physiologischen Prozessen wieder zeigte. Die Reihe, meist als lyotrope Reihe bezeich-

net, lautet für die Kationen etwa: Cs, Rb, K, Na, Li, NH_4, für Anionen: CNS, J, ClO_3, Br, NO_3, Cl, CH_3COO, S_2O_3, SO_4, Tart., Citr., Oxal.

Ich fand, daß bei Gegenwart von Ammoniumfluorid und Ammoniumsulfat, namentlich wenn noch Wasserstoffsuperoxyd zugeführt wurde, sehr erhebliche Mengen Kupfers in Lösung gingen, was durch Blaufärbung zu erkennen war. Bei dieser Gelegenheit war mir aufgefallen, daß in den Proben mit Ammoniumchlorid und Ammoniumbromid sich bei Gegenwart von metallischem Kupfer nach längerem Stehen ein hellgrünes Pulver abgeschieden hatte, das offenbar als Oxychlorid, nach der bekannten Bildungsweise des Kupferoxychlorids, resp. als Oxybromid anzusprechen war.

Hierdurch war meine Aufmerksamkeit zunächst darauf gelenkt, inwieweit die Verschiedenheit der gleichzeitig vorhandenen Anionen auf den Lösungsvorgang des metallischen Kupfers einen Einfluß hat. Ich ging dabei von den Lösungsverhältnissen der Kupfersalze aus. Wenn wir von den typischen kupferfällenden Anionen (wie beim Sulfid, Ferrocyankalium, oder Carbonat oder Hydroxyd) absehen, so können wir die in der lyotropen Reihe enthaltenen Anionen bezügl. ihres Verhaltens zu Kupferionen im wesentlichsten in drei Klassen einteilen. An dem Ende der Reihe stehen die Rhodan-, Jod- und Cyanionen. Diese sind imstande, die Cuprisalze zu Cuprosalzen zu reduzieren, d. h. den Cupriionen positive Ladung zu entziehen und durch ihre eigene negative Ladung zu neutralisieren. Das gemeinsame physikalisch-chemische Verhalten dieser Ionen, die an dem einen Ende der Reihe stehen, äußert sich also bei den Cuprisalzen in einer gemeinsamen chemischen Reaktion.

Die zweite Gruppe von Ionen sind die Halogenionen, speziell Chlor, Brom und Fluor, auf die ich aus Rücksicht auf den Ausgangspunkt dieser Untersuchungen, den Antagonismus von Natriumchlorid gegen Kupfer, etwas ausführlicher eingehe.

Alle Halogenide bilden mit Kupfersalzen unter Hydrolyse außerordentlich leicht Oxyhalogenide:

$$CuX_2 + NaHal + H_2O = CuHal(OH) + NaX + HX.$$

Sie entstehen sofort, wenn man Kupferacetat mit Natriumchlorid versetzt und gelinde erwärmt, in großer Menge auch

beim Kochen. Sie entstehen ebenfalls, wenn man Kupfersulfat mit Natriumchlorid kocht, dagegen bleibt eine Kupfernitratlösung auch beim Kochen mit Natriumchlorid klar, scheidet aber auf Zusatz von Natriumacetat sofort große Quantitäten von Oxychlorid aus. Wir haben also auch hier wieder einen Hinweis auf die lyotrope Reihe. Ganz besonders interessant sind die Verhältnisse beim Kupferfluorid. Mischt man Kupfersulfat mit Natriumfluorid, so bildet sich nur ganz allmählich ein Niederschlag, dessen Bildung namentlich durch Zufügung von viel Wasser verzögert werden kann. Die Fällung ist auch bei einem großen Überschuß von Natriumfluorid (200 Mol.) und Erwärmen nicht vollständig. Kocht man die Lösung von Kupferfluorid in Wasser, so bildet sich in der Hitze ein Niederschlag, der beim Erkalten sich teilweise wieder löst. Versuche mit Rosolsäure zeigten, daß beim Erwärmen eine Änderung der Reaktion eintritt, die beim Erkalten zurückgeht. Setzt man einige Tropfen NaOH hinzu, so löst sich der in der Hitze gebildete Niederschlag nicht mehr beim Erkalten völlig auf, während umgekehrt bei Zusatz einiger Tropfen Säure die Fällung in der Hitze ausbleibt. Es handelt sich also um eine reversible Reaktion, bei der in der Hitze Hydroxylionen verschwinden. Hindert man das Auftreten der Hydroxylionen, indem man von vornherein Säure zufügt, so tritt die Reaktion nicht ein. Umgekehrt geht die Wiederauflösung unter Beteiligung von Wasserstoffionen vor sich; vermindert man die Wasserstoffionen durch Zusatz von Lauge, so hemmt man auch die Wiederauflösung des Niederschlags. Wir können den Reaktionsmechanismus also ausdrücken durch die Gleichung:

$$CuFl_2 + H_2O \rightleftarrows CuFl(OH) + HFl.$$

Dem entspricht auch, daß man die ganze Reaktion, d. h. die Abscheidung von Kupferoxyhalogenid hemmen kann, wenn man einen Moderator (Puffer) hinzusetzt. Bei Gegenwart auch von geringen Mengen Glykokoll bleibt die Bildung des Oxyhalogenids aus.

Endlich haben wir noch, als dritte Gruppe, Ionen, welche mit Kupfer sehr leicht lösliche komplexe Salze bilden, wie das Sulfit und das Thiosulfat. Es muß aber hierbei bemerkt werden, daß zu diesen Ionen auch die Halogenide, speziell das Chlor- und Bromion gehören. Sowohl Cupro- wie Cupriverbindungen

bilden ausgesprochen leicht Halogenkomplexe[1]). Die Tendenz zur Komplexbildung nimmt, wie stets, auch bei den Kupferhalogeniden mit abnehmender Elektroaffinität zu; da das Fluorion eine große Elektroaffinität hat, wird es verständlich, daß in den wäßrigen Lösungen des Kupferfluorids bei, wie oben gezeigt, hochgradiger Hydrolyse des Salzes nur sehr geringe Konzentrationen an komplexen Cuprifluoranionen vorhanden sind, das gilt in noch ausgesprochenerem Maße von den Cuprosalzen. Die Alkalicuprifluoride unterscheiden sich stark von den entsprechenden Salzen der anderen Halogene, sie sind, was hier besonders hervorgehoben sei, schwer löslich, und von den Cuprosalzen sind überhaupt keine Halogenkomplexsalze bekannt.

Die oben geschilderten Eigenschaften der verschiedenen Cuprisalze werden natürlich maßgebend sein für die Auflösung des Kupfers in entsprechenden Salzlösungen. Wir müssen annehmen, daß (wenn wir von der Sauerstoffkonzentration absehen) die Auflösung des Kupfers überall dort begünstigt wird, wo komplexe Ionen sich bilden können, wo also anorganische Salze vorhanden sind, deren Anionen eine kleine Haftintensität besitzen. Die Auflösung des Kupfers wird ferner dort begünstigt sein, wo die Wasserstoffkonzentration steigt, endlich wird die Auflösung von Kupfer dort gehemmt sein, wo unlösliche Verbindungen sich bilden, weil diese sich eventuell auf dem Kupfer auflagern und sich damit gewissermaßen ein schützender Firnis auf dem metallischen Kupfer abscheidet.

Es ist nach dem Gesagten ohne weiteres zu erwarten, daß das metallische Kupfer sich leicht in Thiosulfat löst, dagegen nicht löst in Rhodanlösung; dem entsprechen auch die Versuchsresultate:

Bezüglich der Halogenide war nach den oben besprochenen Eigenschaften des Kupferfluorids zu erwarten, daß in Natriumfluoridlösung sich Kupfer wenig löst, was in der Tat der Fall ist. Bezüglich des Natriumchlorids und -bromids ist von vornherein kein Resultat eindeutig gegeben, da verschiedene Faktoren in Betracht kommen. Auf der einen Seite haben wir Bildung eines unlöslichen Oxychlorids, das durch Auflage-

[1]) Bodländer und Storbeck, Zeitschr. f. anorgan. Chem. 31, 1, 1902.

Gleiche Mengen metallischen Kupfers werden mit der in Spalte I genannten Lösung (mol) 24 Stunden lang stehen gelassen.

	1 ccm H_2O_2 + 2 ccm Na-Thiosulfat	1 ccm H_2O_2 + 2 ccm Wasser
Glykokoll .	Cu geschwärzt	gelöst, blau
Na-Oleat . .	Cu geschwärzt, Abscheidung von Schwefelkupfer	Cu-Oleat auf d. Metall
Asparagin .	do.	gelöst
Ammoniak .	minimale Schwärzung	gelöst, tiefblau
NH_4Cl . . .	minimale Schwärzung, wenig weißer Niederschlag	Oxychlorid, etwas blau
NH_4Fl . . .	Cu geschwärzt, viel Schwefelkupfer	gelöst, blau
NH_4NO_3 . .	do.	Spur blau
NH_4CNS . .	do.	farblos

rung (Schichtbildung) auf dem Kupfer dessen Lösung hemmen könnte, andererseits aber haben wir die Reaktionsverschiebung. Was aber hauptsächlichst in Betracht kommt, ist, daß gerade für die Chloride und Bromide des Kupfers gezeigt wurde, daß sie sehr leicht komplexe resp. wenig dissoziierte Verbindungen bilden, die leicht löslich sind. Ist doch sogar das sonst so schwer lösliche Cuprochlorid in verdünnter Natriumchlorid- resp. Kaliumchloridlösung nach den Untersuchungen von Bodländer recht erheblich löslich. In der Tat ergab sich, wie das Protokoll zeigt, daß sich Kupfer in Natriumchlorid gut löst.

	Metallisches Kupfer in Mol-Salzlösung plus	
	1 ccm Wasser	1 ccm Wasserstoffsuperoxyd
NaFl . . .	keine Lösung, dann Spuren	Spur blaue Lösung
Na-Citrat .	Spur blaue Lösung, mit $(NH_4)_2S$ schwache Reaktion	die stärkste Bläuung
Na_2SO_4 . .	keine Lösung	keine Lösung
Na-Acet . .	mit $(NH_4)_2S$ schwache Reaktion	sehr langsame Lösung
NaCl. . . .	bläulich weißer Niederschlag, Reaktion mit $(NH_4)_2S$ am deutlichsten	deutlich blau, weißer Niederschlag nicht so stark
$NaNO_3$. . .	keine Lösung, bei längerem Stehen Spuren	etwas gelöst
NaBr . . .	bläulich weißer Niederschlag	deutlich blau, weißer Niederschlag nicht so stark
NaJ	erst bei längerem Stehen geringe Lösung	Spur gelöst
NaCNS . .	Cu zeigt weißen Belag	keine Lösung



Fig. 1.
Ohne Zusatz (Wasser).



Fig. 2.
Ohne Zusatz (Wasser).



Fig. 3.
Zusatz von $Na_2S_2O_3$.



Fig. 4.
Zusatz von NaCNS.

Bei den Natriumsalzen für sich ist zunächst in den ersten 24 Stunden keine deutliche Einwirkung zu erkennen, außer beim Citrat. Beim NaCl und NaBr deutlicher Niederschlag von Oxychlorid, später auch etwas Blaufärbung. Beim Rhodan auf dem Kupfer ein weißer Belag von Kupferrhodanür.

Bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd, das wohl für die angewandten Reagenzien indifferent ist, treten die Erscheinungen deutlicher hervor.

Genau mit diesen Löslichkeitsverhältnissen des Kupfers geht auch die oligodynamische Wirkung einher. Durch Versuche über die desinfizierende Wirkung der verschiedenen Kupfersalze auf Leimnährböden ergab sich, daß bei Zusatz von Thiosulfat zu den Leimnährböden die Kupferwirkung außerordentlich gesteigert wird; umgekehrt wurde sie durch Rhodansalze ebenso herabgesetzt, und wie bei den entsprechenden Lösungsversuchen im Reagensglas war auch die oligodynamische Kupferwirkung durch Natriumchlorid und Natriumbromid gesteigert. Wie Natriumchlorid verhält sich auch Kaliumchlorid, zum Teil auch Magnesiumchlorid, nicht aber die entsprechenden Sulfate. Nach dem Vorgang von Dr. Th. Messerschmidt (Habilitationsarbeit, Straßburg 1916) habe ich einige Platten photographiert. Man sieht die starke Wirkung des Thiosulfats, während auf den Platten mit Rhodanid keine oligodynamische Wirkung zu erkennen ist, man sieht vielmehr, wie sich auf dem Metall das unlösliche weiße Kupferrhodanür abgeschieden hat (siehe Tafel I, Figuren 1—4).

Wir finden also, daß ein direkter Antagonismus zwischen Natrium und Kupfer nicht nachgewiesen werden kann, daß aber die verschiedenen Natriumsalze je nach den Anionen, mit denen sie verbunden sind, die oligodynamische Wirkung hemmen oder fördern können, ganz in Übereinstimmung mit ihrem physikalisch-chemischen Verhalten.

Wir müssen uns schließlich fragen, ob die genannten Versuche auch zu einer anderen Erklärung des Bullotschen Versuches führen. Man muß dabei im Auge behalten, daß die Bullotsche Versuchsanordnung sich von dem in den obigen Versuchen angewandten Verfahren in einem Punkte wesentlich unterscheidet. Bei Bullot handelte es sich um destilliertes

Wasser, in dem etwas Kupfer gelöst war, während bei den obigen Versuchen ein Überschuß von Kupfer vorhanden war. Wenn wir also oben von der Bedeutung des Kupferoxychlorids und seiner Schwerlöslichkeit in Wasser sprachen, so kann das natürlich nicht zur Erklärung des Bullotschen Versuches herangezogen werden, da die geringen Mengen Kupfersalz, um die es sich bei Bullot handelt, natürlich auch als Oxychlorid in Wasser löslich sind. Wohl aber können wir eine andere Tatsache heranziehen.

Läßt man destilliertes Wasser einige Zeit über Kupfer stehen, so ist das in Lösung gegangene Kupfer zwar nicht durch Ferrocyankalium oder Schwefelammonium nachzuweisen, wohl aber gelingt der Nachweis mit Hilfe der alten Pagenstecherschen[1]) Reaktion, mittels Guajak und Cyankalium. Ich habe schon in meiner ersten Arbeit auf die außerordentliche Empfindlichkeit dieser Reaktion hingewiesen. Sie beruht, wie ich dabei erörtert habe, darauf, daß das Kupfer reduziert und Guajak dadurch oxydiert wird. Dieselbe Reaktion wie Kaliumcyanid gibt auch, wie bekannt, das Jodkalium, aber ebenso Natriumbromid und Natriumchlorid. Versetzt man eine solche Kupferlösung, wie sie oben beschrieben ist, mit etwas Guajaklösung und einem Tropfen Natriumchloridlösung, so tritt sofort die Färbung des Guajakblau auf. Die anderen Natriumsalze geben diese Reaktion nicht, auch nicht das Natriumfluorid. Man sieht, daß die Reaktion, die charakteristisch für Jodide ist, auch bei den anderen Halogensalzen (Bromiden, Chloriden), wenn auch nur unter besonderen Umständen, auftreten kann.

$$2\,Cu(OH)_2 + 2\,NaCl + R = 2\,CuCl + 2\,NaOH + H_2O + RO,$$

d. h. es entsteht, namentlich bei Gegenwart einer oxydierbaren Substanz, aus Cuprisalz auf Zusatz von Natriumchlorid etwas Cuprosalz, und das Gemenge von Cupri- und Cuprosalzen kann, wie oben auseinandergesetzt, sowohl für sich als auch mit verdünnten Chloridlösungen komplexe Salze bilden. Dabei ist es gleichgültig, welches Chlorid wir anwenden, mit Kaliumchlorid geht die Reaktion ebenso gut wie mit Natriumchlorid und ebenso auch mit dem Chlorid des Magnesiums, das ja im natürlichen

[1]) Vgl. Ed. Schaer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 2, 230; 3, 21, 1869/1870.

System der Elemente zu einer andern Reihe gehört als Natrium und Kupfer. Das Wesentliche an der Reaktion zwischen Cuprosalzen und Chloriden ist die Bildung einer komplexen Cuproverbindung. Durch diese Komplexbildung wird die Konzentration der entstehenden Cuproionen stark herabgesetzt, und deshalb kann eine weitere Entladung der Cupri- und Hydroxylionen stattfinden.

Wenn man es als das Wesen der oligodynamischen Wirkung bezeichnen kann, daß eine Lösung von metallischem Kupfer in Wasser dieses Metall nur in Spuren, d. h. in chemisch nicht nachweisbaren Mengen, enthält und doch eine Giftwirkung auszuüben vermag, so haben wir in der durch eine solche Kupferlösung bewirkten Oxydation der natriumchloridhaltigen Guajaklösung (eines physiologisch-chemisch auch sonst noch häufig benutzten Testobjekts) gewissermaßen die vollkommene Parallele in vitro.

Gleichzeitig zeigt diese Reaktion, daß in der oligodynamisch wirksamen Kupferlösung nicht eine Lösung des Metalls, auch nicht eine solche von Cuproionen, sondern vielmehr eine solche von Cupriionen vorliegt, was ja auch schon a priori nach der erheblich größeren Elektroaffinität des Cupriions gegenüber dem Cuproion zu erwarten war.

Wie ist nun der Bullotsche Versuch zu erklären, resp. liegt echter Antagonismus oder Antiergismus hier vor? Wenn wir uns vor Augen halten, daß im Protoplasma der Zellen sehr viel Stoffe sind, die ebensowohl Natrium als auch Kupfer aufnehmen können, vor allen Dingen von bekannten Stoffen die Eiweißstoffe mit ihrem Säurecharakter und die kupferbindenden Phosphate, so ist es natürlich nicht ausgeschlossen, daß die kleinen im Wasser gelösten Mengen Cupriionen an die Stelle der Natriumionen treten, und daß also auch bei so geringen Mengen eine Massenwirkung eintreten und damit der Antiergismus zustande kommen kann. Dieser Ansicht scheint auch H. H. Meyer in der neuesten Auflage seines Lehrbuchs zuzuneigen. Auf der andern Seite ist aber durch die obigen Versuche nachgewiesen, daß zwischen Chlorionen und Kupferionen ein ionaler Antagonismus, d. h. ein echter Antagonismus besteht, und da auch meine Versuche gezeigt haben, daß die oligodynamische Wirkung des Kupfers durch Chloride überhaupt aufgehoben werden kann, so liegt es jedenfalls nahe, auch die

Bullotschen Versuche in dieser Weise als echten Antagonismus aufzufassen.

Es bleibt schließlich noch die Frage, ob ein Einfluß der Salzlösung insofern auf die oligodynamische Kupferwirkung vorhanden ist, als die Aufnahmefähigkeit der Zelle für die Kupfersalze durch Salze verändert wird. Soweit die Salze auf das Quellungsvermögen der Eiweißkörper und des Protoplasmas wirken, ist das schon durch die Untersuchungen von Hofmeister und die daran sich anschließenden Forschungen gezeigt worden.

Neben diesem Faktor kommt aber noch ein zweiter für die Wirkung in Betracht. Das ist die Frage der Adsorption. Ist bei verschiedenen Anionen die Adsorption der Kupfersalze dieselbe oder eine andere? Ich habe schon in meiner vorigen Arbeit darauf hingewiesen, daß die chemische Reaktionsfähigkeit der Cupriionen so groß ist, daß die nächstliegende Annahme ist, sie werden, wenn sie einmal vom Protoplasma aufgenommen sind, auch von ihm gebunden. Der Adsorption kommt also nach dieser Auffassung gewissermaßen nur eine vorbereitende Rolle zu, sie begünstigt und vermittelt die später erfolgende chemische Reaktion. Um an möglichst einwandfreiem, d. h. einfachem Material die Frage zu prüfen, habe ich nicht mit Zellen, sondern mit einem leblosen Stoffe gearbeitet. Da mir eine Tierkohle von außerordentlich guter Adsorptionsfähigkeit zur Verfügung stand (die Chlor glatt in HCl und HOCl umsetzte), habe ich mit ihr die Adsorptionsfähigkeit der verschiedenen Kupfersalze geprüft. Aus der folgenden Tabelle ergibt sich, daß die Adsorptionsfähigkeit des Chlorids und Nitrats stets höher ist als die des Sulfats und diese wiederum stets höher als die des Acetats.

Konzentration der Lösung	Adsorbierte Menge Kupfer der vorhandenen Konzentration			
	$CuCl_2$ %	$Cu(NO_3)_2$ %	$CuSO_4$ %	$Cu(Ac)_2$ %
m/5	6,0[1]	5,6	6,7	9,4
m/10	6,6	7,4	8,7	18,9
m/25	8,7	11,1	13,0	28,3

[1]) Das Filtrat scheidet beim Stehen etwas Oxychlorid aus.

Wir haben auch hier wiederum Verhältnisse, die sich in die lyotrope Reihe einfügen lassen und die zeigen, daß also auch bei den Adsorptionserscheinungen sich diese Reihe erkennen läßt. Die besonders starke Adsorption des Acetats ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß es besonders leicht basische Salze bildet resp. eine besonders starke Hydrolyse zeigt. Der erhebliche Unterschied, der zwischen Nitrat und Sulfat in diesen Versuchen besteht, zeigt eine gute Analogie mit der Konzentration an Cupriionen in beiden Salzen. Nach den Untersuchungen von Labendzinski[1]) neigt das Cuprisulfat in ganz erheblich höherem Grad zur Selbstkomplexbildung als das Nitrat, gerade das Kupfernitrat zeigte die stärkste Konzentration an einfachen Ionen von allen gemessenen Nitraten der Schwermetalle, während umgekehrt Rieger[2]) beim Kupfersulfat und namentlich beim Kupferacetat die Komplexbildung auf Grund von Überführungsversuchen sicher nachweisen konnte.

Anhangsweise seien noch kurz einige Versuche erwähnt über die Wirkung von Salzen auf die Auflösung von Cellulose durch das Schweizersche Reagens. Erfahrungsgemäß kann man sich nur schwierig aus noch so hoch konzentrierten Kupfersalzlösungen ein gut wirksames Präparat von Schweizers Reagens herstellen. Das liegt, wie ich fand, daran, daß die Gegenwart von Ammoniumsalzen, und zwar von allen Ammoniumsalzen, die Auflösung der Cellulose mit Schweizers Reagens hemmt. Das ist eine Eigenschaft nur der Ammoniumsalze, denn Natriumsalze hemmen die Wirkung erheblich weniger oder gar nicht, nur das Rhodannatrium zeigt eine deutlich ausgesprochene Hemmung, die sich nach längerem Stehen auch bei den benachbarten Gliedern der Reihe zeigt. Man geht deswegen praktisch zur Herstellung von Schweizers Reagens am besten von wasserunlöslichen Kupferverbindungen aus, am einfachsten vom Kupferhydroxyd oder vom Kupfercarbonat.

---

[1]) Inaug.-Diss. Breslau 1904.

[2]) Inaug.-Diss. Breslau 1902.

Über Resorption und Assimilation von Eiweiß und Aminosäuren.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 5. März 1916.)

In einer früheren Mitteilung[1]) habe ich über Versuche berichtet, nach denen bei Einführung von Aminosäuren an Kaninchen per os in einer Quantität von 3 g der Aminosäuregehalt des Blutes eine deutliche Steigerung aufwies, während 10 g Casein oder Witte-Pepton keine Änderung des Aminosäuregehaltes bewirkten. Diese nach meiner Ansicht recht überraschenden Ergebnisse forderten mehr eingehende Untersuchungen, durch die festgestellt werden sollte:

1. Die minimale Aminosäuremenge, die eben eine Steigerung im Blute und Ausscheidung im Harn bewirken. 2. Wie sich in dieser Beziehung die verschiedenen Aminosäuren verhalten. 3. Inwieweit eine Mischung von verschiedenen Aminosäuren sich wie dieselbe N-Menge in Form einer einzigen Aminosäure verhalten oder nicht. 4. Wie verschiedene Eiweißkörper — genuine sowie Albumosen-Peptone — übereinstimmen. 5. Inwieweit die Zusammensetzung der Eiweißkörper von Bedeutung ist.

Zu den Versuchen wurden 10 Kaninchen verwendet, die die meisten Aminosäure-Eiweißversuche durchmachten. Das Gesamtvolum der eingeführten Lösung war überall 100 ccm, das mit der Magensonde gegeben wurde. Am Versuchstage bekamen die Tiere kein Futter. Sie wurden nicht öfter als jeden zweiten Tag verwendet und bekamen dann inzwischen ihre ge-

[1]) Diese Zeitschr. 72, 26, 1915.

wöhnliche Nahrung: Hafer, Heu, Rüben und Wasser. Da nach der ganzen Versuchsperiode ihr Gewicht unverändert geblieben war, haben sie die Experimente gut vertragen. Außer den Blutanalysen nach meinen Mikromethoden, die ich als bekannt voraussetze, wurde der Harn auf Eiweiß, formoltitrierbaren Stickstoff und Ammoniak untersucht. Die Differenz zwischen Formol-N und Ammoniak-N wurde als Aminosäure-N angesehen. In einigen Versuchen machte sich die ammoniakalische Gärung störend geltend, solche Versuche sind ohne Angaben für Aminosäure-N im Harn angegeben. In den meisten Versuchen wurde der immer mit Toluol versetzte Harn gleichzeitig auf NH_3 und Formol-N verarbeitet.

Nach Einführung von 1 g Glykokoll war das Ergebnis folgendes. (Die Werte entsprechen Milligramm N in 100 g Blut.)

Tabelle I.

Versuchstier	Nr. 1: 4300 g		Nr. 2: 2700 g		Nr. 3: 2300 g		Nr. 4: 2200 g	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	20	16	18	22	24	15	16	24
"	—	—	—	—	21	15	—	—
1 Std. nach Eingabe von Glykokoll . . .	19	19	21	17	19	18	18	18
2 " desgl.	19	16	19	19	10	23	13	23
3 " desgl.	18	14	18	30	13	19	12	20
6 " desgl.	16	16	—	—	15	16	15	21
10 " desgl.	16	10	29	14	15	18	17	16
Steigerung des +Ür-N und des Aminosäure-N im Blut .	0	3	11	8	0	8	2	0
Aminosäure-N im Harn . .	—	—	—	5,5	—	54,5	—	23

Nach Einführung von 1 g Glykokoll kommt, wie ersichtlich, in 3 von 4 Versuchen eine Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute vor. Doch liegt in einem Falle die Steigerung innerhalb der Fehlergrenzen. In den zwei übrigen Versuchen ist die Steigerung unzweideutig. In sämtlichen Versuchen wurden ebenfalls Aminosäuren mit dem Harn ausgeschieden (auch im Versuch 1, wo die absolute Menge nicht mehr festgestellt werden konnte). Diese Ausscheidung ist unabhängig von der Steigerung im Blute, indem sowohl die größte wie die geringste ausgeschiedene Quantität bei den höchsten Werten

des Blutes vorkommen. Folglich besitzen die Nieren verschiedener Tiere eine ungleiche Durchlässigkeit für Glykokoll, was wahrscheinlich einer verschiedenen Erregbarkeit der Niere durch die Aminosäure entspricht. Wichtig ist die Tatsache, daß es zu einer Ausscheidung von Glykokoll ohne nachweisbare Steigerung im Blute kommen kann.

Nach Einführung von 2 g und 3 g Glykokoll in 100 ccm Wasser waren die Ergebnisse, wie die folgenden Tabellen II und III zeigen.

Tabelle II.

Versuchstier	Nr. 5		Nr. 6: 3300 g		Nr. 7		Nr. 8: 1900 g	
	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N
Präformiert	32	10	24	15	20	21	18	33
"	27	13	—	—	—	—	—	—
1 Std. nach Eingabe von Glykokoll	25	22	—	—	21	26	18	35
2 " desgl.	28	20	22	22	20	31	17	43
3 " desgl.	30	18	23	19	24	26	17	41
6 " desgl.	—	—	22	18	24	27	18	34
10 " desgl.	—	—	18	23	31	15	17	31
Steigerung des +Ür-N und des Aminosäure-N im Blut	0	12	0	8	11	10	0	10
Aminosäure-N im Harn	—	82	—	—	—	6,2	—	—

Tabelle III.

Versuchstier	Nr. 5		Nr. 6		Nr. 7		Nr. 8		Nr. 9		Nr. 10	
	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N
Präformiert	18	8	14	7	27	19	36	13	24	28	12	28
"	15	10	11	10	24	21	—	—	18	25	—	—
1 Std. nach Eingabe von 3 g Glykokoll	17	15	13	25	27	20	33	27	19	27	11	30
2 " desgl.	17	27	10	34	30	26	29	33	17	43	11	45
3 " desgl.	—	—	13	34	27	31	25	29	18	43	10	52
6 " desgl.	20	25	17	21	30	21	—	—	17	34	20	38
10 " desgl.	28	12	16	14	32	11	22	18	17	35	23	20
Steigerung des +Ür-N und des Aminosäure-N im Blut	10	19	3	27	5	12	0	20	0	20	11	24
Aminosäure-N im Harn	—	105	—	?	—	40	—	?	—	57,3	—	2,8

Die Durchschnittswerte der Steigerung von Aminosäurestickstoff im Blute nach Einführung von 1, 2 und 3 g Glykokoll sind 5 mg N, 10 mg N und 21 mg N und folglich proportional der eingeführten Stickstoffmenge oder überall zirka 2 % des Glykokollstickstoffs. In der früheren Abhandlung (l. c.) wurde erwiesen, daß die Steigerung nach Einführung einer 5 fachen Glykokollmenge nicht größer ist als 17 bis 24 mg N. Der Aminosäuregehalt des Blutes kann an wohlernährten Tieren nur zu einer gewissen Höhe, etwa 1 ‰, steigen, die schon von 3 g Glykokoll erreicht wird. Vermehrt man die eingeführte Quantität, geht der Überschuß ebenso schnell aus dem Blute, wie er eingeführt wird. Es ist weiter ersichtlich, daß der Harn nicht diese überschüssig eingeführte Glykokollmenge aufgenommen hat. Nach Einführung von 3 g Glykokoll ist die im Harn ausgeschiedene Menge bisweilen sogar geringer als nach Eingabe von 1 g. Entweder wird deswegen das Glokokoll von den Geweben aufgenommen und hier fixiert oder direkt von der Leber desamidiert und in Harnstoff übergeführt. Hierfür spricht die Steigerung des Harnstoff-N im Blute während des Versuchs, die nach Einführung von 3 und 10 g Glykokoll deutlich und recht konstant zu finden ist. Nach Einführung von 3 g ist diese Steigerung durchschnittlich 5 mg, nach 10 g Glykokoll 12,5 mg. (Eine Feststellung der gesamten Ausscheidung im Harn von Harnstoff ist beim Kaninchen recht schwer, da die Tiere am Versuchstage keine Nahrung bekamen.)

Ein Vergleich der Tabellen II und III wird weiter zeigen wie dasselbe Kaninchen sich nach Eingabe von 2 und 3 g Gly-, kokoll verhält. Kaninchen Nr. 5 zeigt nach Einführung von 2 g Glykokoll eine Aminosäuresteigerung von 12 mg N, nach 3 g 19 mg N. Für Nr. 6 sind die Werte 8 mg und 27 mg, für Nr. 7 10 mg und 12 mg, für Nr. 8 10 mg und 20 mg. Ebenfalls scheiden die Tiere nach Eingabe von 3 g Glykokoll konstant mehr Glykokoll mit dem Harn aus.

Die recht überraschende Tatsache, daß die Kaninchen nach Einführung von 2 bis 3 g Glykokoll eine ebenso große Steigerung des Aminosäurestickstoffs im Blute zeigen wie nach 10 g, stimmt ganz mit den Verhältnissen nach Einführung von Traubenzucker überein. Nach den Untersuchungen des Verfassers und Böes bedingen geringe Zuckermengen wie 2 bis 3 g eine ebenso

große Hyperglykämie wie die 5fache Quantität. Es wurde hier gefolgert, daß die überschüssige Zuckermenge von den Geweben fixiert worden ist. Per analogiam ist die Folgerung naheliegend, daß die sicher unvollständig desamidierten Aminosäuren ebenfalls von den Geweben aufgenommen werden. Sind nämlich 2 g Glykokoll nur unvollständig desamidiert worden, muß dies in noch geringerem Grade mit 10 g der Fall sein.

In den Alaninversuchen, die in der folgenden Tabelle IV zusammengestellt worden sind, bekamen die Versuchstiere 2,5 g bzw. 3,5 g Alanin. Die Stickstoffmenge entspricht 2 g bzw. 3 g Glykokoll (372 mg und 546 mg N gegen 372 mg und 558 mg N). Die Versuche 1 und 2 sind mit 2,5 g Alanin, die übrigen mit 3,5 g Alanin, hier wie überall in 100 ccm Wasser gelöst, angestellt.

Tabelle IV.

Versuchstier	Nr. 7		Nr. 10		Nr. 5		Nr. 6		Nr. 7		Nr. 10	
	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N	+Ür-N	Aminosäure-N
Präformiert	17	13	20	21	13	16	14	9	19	15	13	23
„	13	15	20	17	12	15	13	7	—	—	14	27
1 Std. nach der Alaninzufuhr	13	27	23	32	16	19	16	13	14	26	12	34
2 „ desgl.	12	21	24	30	18	23	—	—	17	26	16	36
3 „ desgl.	—	—	—	—	22	19	14	22	16	25	—	—
6 „ desgl.	20	21	—	—	25	15	19	18	23	25	—	—
10 „ desgl.	20	17	20	23	25	16	17	18	27	21	16	22
Steigerung des +Ür-N und des Aminosäure-N im Blut	3	14	4	11	12	7	5	11	8	11	3	12

In den Alaninversuchen findet man ebenfalls eine Steigerung des Reststickstoffs, und zwar von derselben Größe nach 2,5 g wie nach 3,5 g. Dies Verhältnis ist um so mehr exakt, als die Versuche mit 2,5 g und 3,5 g an denselben Tieren ausgeführt worden sind. Die absolute Steigerung ist nach 2,5 g Alanin größer als nach 2 g Glykokoll; umgekehrt ist die Steigerung nach 3,5 g Alanin geringer als nach 3 g Glykokoll.

Die Steigerung des Harnstoff-N ist nach 2,5 g Alanin 3,5 mg N, nach 3,5 g Alanin 7 mg N, während 2 g Glykokoll nur in einem von 4 Versuchen und 3 g Glykokoll durchschnittlich 5 mg N als Steigerung aufwiesen. Hieraus darf gefolgert

werden, daß Alanin wahrscheinlich etwas leichter desamidiert wird als Glykokoll. Dank seiner Methylgruppe könnte man sich vorstellen, daß es wahrscheinlich auch etwas leichter für die Lipoidmembran der Leberzellen durchgängig sei.

Von übrigen Aminosäuren ist nur Leucin untersucht worden, und zwar wegen seiner Kostbarkeit nur in 2 Versuchen.

Tabelle V.

	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	19	16	13	30
"	18	16	13	27
1 Std. nach Zufuhr von Leucin	20	18	18	16
2 " " " " "	22	18	18	25
3 " " " " "	22	18	18	22
6 " " " " "	26	12	19	25
10 " " " " "	33	10	25	10
Steigerung	14	2	12	0

Nach Einführung von 5 g Leucin, entsprechend 535 mg Aminosäurestickstoff oder etwa dieselbe Menge wie 3 g Glykokoll findet man infolgedessen absolut keine Steigerung des Aminosäurestickstoffs im Blute. Dagegen kommt es zu einer starken Steigerung des Harnstoff-N. Beide Tatsachen besagen, daß das Leucin schnell und vollständig desamidiert worden ist. Dies kann vielleicht damit in Zusammenhang stehen, daß das Leucin möglicherweise schneller durch die Leberzellenmembran geht als die früher untersuchten Aminosäuren, da Leucin ja bedeutend reicher an Methylgruppen ist als z. B. Glykokoll.

Nach Erledigung der Frage über das Verhalten der einzelnen Aminosäuren haben wir zunächst das Problem zu entscheiden, wie sich Mischungen von verschiedenen Aminosäuren verhalten. Die folgende Tabelle VI gibt hierüber eine Übersicht. Das Kaninchen Nr. 5 bekam 1 g Glykokoll + 1 g Alanin + 1 g Leucin + 1 g Glutaminsäure, zusammen 548 mg Aminosäure-N. Nr. 6 bekam 1 g Glykokoll + 1 g Alanin + 1 g Leucin + 1 g Asparaginsäure (684 mg N). Nr. 9 und 10 1 g Glykokoll + 1 g Alanin + 1 g Leucin + 1 g Asparaginsäure + 1 g Glutaminsäure (649 mg N). Die Säuren waren überall in 100 ccm Wasser gelöst.

Tabelle VI.

Versuchstier	Nr. 5		Nr. 6		Nr. 9		Nr. 10	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	21	14	8	13	15	18	16	21
"	20	12	8	10	13	20	17	21
1 Std. nach der Zufuhr . .	20	12	11	14	15	20	22	18
2 " " " " . .	23	17	12	19	16	26	25	25
3 " " " " . .	21	15	13	20	—	—	—	—
6 " " " " . .	—	—	18	15	23	28	27	32
10 " " " " . .	22	17	20	10	24	23	27	26
Steigerung des +Ür-N und des Aminosäure-N	2	3	12	7	9	10	11	11

Im Vergleich mit den Versuchen über das Verhältnis der einzelnen Aminosäuren zeigen die obigen Versuche, in denen ein etwa 3,5 g Glykokoll entsprechendes Aminosäuregemisch gegeben wurde, recht große Übereinstimmung. Die durchschnittliche Steigerung des Harnstoffstickstoffs und Aminosäurestickstoffs im Blute ist 8 und 9 mg. Nach Einverleibung von 3 g Glykokoll und 3,5 g Alanin waren die Ziffern 5 bis 20 mg und 7 bis 10 mg. Besonders groß ist die Übereinstimmung mit den Alaninversuchen. Nur in den zwei letzten Versuchen wurde der Aminosäure-N im Harn festgestellt. Er war 9,2 mg (Nr. 9) und 8,9 mg (Nr. 10). Diese geringe Ausscheidung bei einer gleichzeitigen Steigerung im Blute ist doch nicht befremdend, da ähnliche Verhältnisse auch bei den Glykokollversuchen gefunden worden sind. Eine Mischung von Aminosäuren ist nach dem Angeführten betreffs einer Steigerung des Aminosäure-N im Blute mit der Eingabe einer einzigen Aminosäure gleichwertig. Wenn in der früheren Mitteilung ein großer Unterschied zwischen Aminosäure- und Eiweißzufuhr gefunden worden ist, läßt sich dieser Unterschied nicht aus der Tatsache erklären, daß bei Eiweißzufuhr eine Mischung von Aminosäuren eingeführt worden ist. Da indessen nur ein paar Versuche mit Eiweiß ausgeführt worden waren, müßten solche Versuche jetzt in größerem Maßstabe angestellt werden.

Die Versuche sind ausgeführt und die Ergebnisse in den folgenden Tabellen zusammengestellt. Teils wurden 100 ccm Eiereiweiß (mit ca. 10% Eiweiß), teils 100 ccm 10%ige Serum-

eiweißlösung und teils 100 ccm Blutserum eingeführt. Weiter wurde in 4 Versuchen eine 10°/$_0$ige Gelatinelösung per os gegeben (100 ccm).

Tabelle VII.

a) Eiereiweißlösung.

Versuchstier	Nr. 6		Nr. 9		Nr. 4		Nr. 10	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	9	7	15	17	11	18	26	25
"	13	6	14	14	11	19	29	27
1 Std. nach der Zufuhr . .	11	8	15	16	12	15	25	23
2 " " " " . .	—	—	15	17	16	14	22	24
3 " " " " . .	13	12	—	—	13	16	—	—
6 " " " " . .	16	16	18	16	18	14	21	20
10 " " " " . .	18	15	25	13	24	13	22	20
Steigerung . .	9	8	10	0	13	0	0	2

b) Bluteiweiß (Nr. 7 und 8) und Serum (Nr. 5).

Versuchstier	Nr. 7		Nr. 8		Nr. 5	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	19	14	27	13	22	13
"	19	14	27	12	19	13
1 Std. nach der Zufuhr . .	18	19	26	14	24	15
2 " " " " . .	21	16	28	16	—	—
3 " " " " . .	—	—	27	17	30	14
6 " " " " . .	20	14	27	20	30	6
10 " " " " . .	20	11	30	13	28	16
Steigerung . .	2	3	3	7	8	3

c) Gelatinelösung.

Versuchstier	Nr. 5		Nr. 6		Nr. 9		Nr. 10	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	10	10	9	12	21	22	14	20
"	10	7	9	12	16	26	12	17
1 Std. nach der Zufuhr . .	9	21	11	14	16	30	11	37
2 " " " " . .	14	20	16	25	17	43	20	35
3 " " " " . .	18	24	19	17	—	—	—	—
6 " " " " . .	30	16	21	12	31	35	27	33
10 " " " " . .	27	15	19	13	31	29	30	24
Steigerung . .	20	14	12	13	10	21	16	17

Von den angeführten Versuchen bieten die Experimente mit Blutserum und Bluteiweiß das geringste Interesse dar. Blutserum enthält bekanntlich Antitrypsin, das der Proteolyse entgegenwirkt und hier wahrscheinlich auch eingewirkt hat, besonders in den Versuchen 7 und 8. Im Versuch 5 mit trockenem Bluteiweiß, das nur mit Wasser fein zerteilt wurde, spielt diese Fehlerquelle wahrscheinlich eine geringe Rolle. Kam doch das Eiweiß hier nicht als Lösung vor. Die Proteolyse und Resorption geht demgemäß etwas langsamer. Trotzdem findet man hier eine größere Steigerung des Harnstoffgehaltes im Blut als in den übrigen Versuchen. Da diese Versuche nicht rein sind, können wir von denselben absehen. Diese sind nur der Vollständigkeit wegen angeführt worden. Um so interessanter sind dagegen die Versuche mit Eiereiweiß und Gelatine. Von den 4 Versuchen mit Eiereiweiß findet man in einem Versuch (10) keine Steigerung des gesamten Reststickstoffes. Hier ist wahrscheinlich die Resorption aus irgendwelchem Grunde eine geringe gewesen. In den drei übrigen muß aber eine reichliche Resorption stattgefunden haben, wie die Steigerung des Harnstoff-N anzeigt. Diese Steigerung besagt nämlich, daß eine so reichliche Harnstoffmenge gebildet worden ist, daß die Ausscheidung durch die Nieren nicht mit dieser Bildung Schritt halten kann, und eine Anhäufung im Blut ist die Folge. Die Steigerung des Harnstoff-N ist durchschnittlich 11 mg, während 3 g Glykokoll nur 5 mg N aufwiesen. Leucin (5 g), Alanin (3,5 g), sowie die Mischung von Aminosäuren zeigten etwa dieselbe Steigerung. Hier war aber mit Ausnahme von den Leucinversuchen der Aminosäuregehalt ebenfalls stark gestiegen, nämlich durchschnittlich 20 mg, 10 mg und 8 mg. In den Eiereiweißversuchen beträgt diese Steigerung durchschnittlich 3 mg, trotzdem eine dreimal größere Stickstoffmenge eingegeben worden ist. Diese Versuche sind also dadurch charakterisiert, daß trotz reichlicher Resorption kein vermehrter Aminosäuregehalt im Blute zu finden ist. Sie stimmen in dieser Beziehung vollkommen mit den früher publizierten Versuchen an Menschen und Hunden überein.

In scharfem Gegensatz zu den Versuchen mit Eiereiweiß stehen die Gelatineversuche. Zwar findet man hier auch eine und sogar noch größere Steigerung des Harnstoff-N im Blute,

dagegen liegt zugleich eine bedeutende Steigerung des Aminosäurestickstoffes vor, nämlich durchschnittlich 17 mg oder beinahe dieselbe Menge wie nach Eingabe von 3 g Glykokoll.

In vollkommener Übereinstimmung mit dem Verhalten des Aminosäure-N im Blute steht die Ausscheidung von Aminosäure-N im Harn nach Eingabe von Gelatine und Eiereiweiß. In den 4 Gelatineversuchen wurden ausgeschieden 55,8 mg (5), 77 mg (6), 142 mg (9) und 105 mg (10) Aminosäure-N. In den Eiereiweißversuchen (9 und 10) dagegen nur 5 mg und 13,2 mg.

Wenn wir den grundsätzlichen Gegensatz zwischen den Versuchen mit Eieralbumin und Gelatine, der um so mehr überzeugend ist, da die Versuche größtenteils mit denselben Kaninchen angestellt worden sind, zu erklären versuchen sollen, hat man vor allem die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß die Gelatine noch rascher und ausgiebiger im Darmkanal hydrolysiert worden ist als das Eiereiweiß. Um dieser Möglichkeit näherzutreten, wurden mehrere Versuche mit partiell abgebauten Eiweißkörpern angestellt. Zu diesen Versuchen wurden verwendet: Teils mit Pepsin-Trypsin digeriertem Eiereiweiß und Gelatine, teils Witte-Pepton und in einem Versuche Seidenpepton. Die Ergebnisse sind in der Tabelle VIII zusammengestellt.

Aus den Versuchen mit Eiereiweiß ist erstens ersichtlich, daß die Digestionsprodukte dasselbe Blutbild wie eine Lösung des nativen Eiweißes hervorrufen. Es ist hieraus mit großer Wahrscheinlichkeit erwiesen, daß nicht eine eventuelle langsame Darmdigestion die Ursache der unbedeutenden Steigerung des

Tabelle VIII.

a) Peptonisierte Eiereiweißlösung (ca. 10 bis 12 g : 100 ccm).

Versuchstier	Nr. 4		Nr. 9		Nr. 10	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	10	27	25	16	22	27
„	—	—	24	13	—	—
1 Std. nach der Zufuhr . .	13	15	21	25	21	32
2 „ „ „ „ . .	12	17	24	22	18	32
3 „ „ „ „ . .	11	17	—	—	—	—
6 „ „ „ „ . .	14	14	31	28	18	24
10 „ „ „ „ . .	17	14	34	22	27	8
Steigerung . .	7	0	9	9	5	5

b) 10 g digerierte Gelatinelösung (Nr. 5),
10 g Seidenpepton (Nr. 6) : 100 ccm H_2O.

Versuchstier	Nr. 5		Nr. 6	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	13	14	18	10
„	—	—	19	12
1 Std. nach der Zufuhr . .	—	—	21	21
2 „ „ „ „ . .	22	27	23	30
3 „ „ „ „ . .	23	23	24	26
6 „ „ „ „ . .	30	20	24	32
10 „ „ „ „ . .	22	22	23	25
Steigerung . .	17	13	6	22

c) 10 g Witte-Pepton : 100 ccm H_2O.

Versuchstier	Nr. 1		Nr. 2		Nr. 3		Nr. 4	
	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N	+Ür-N	Amino-säure-N
Präformiert	19	26	33	18	16	18	14	30
„	19	22	—	—	12	20	—	—
1 Std. nach der Zufuhr . .	21	24	41	15	16	27	17	35
2 „ „ „ „ . .	22	25	43	16	23	24	24	30
3 „ „ „ „ . .	28	20	47	9	25	30	30	23
6 „ „ „ „ . .	28	19	45	10	26	20	33	20
10 „ „ „ „ . .	31	9	41	14	27	20	25	24
Steigerung . .	12	0	14	0	11	11	16	5

Aminosäurestickstoffes bilden kann. Dies war auch von vornherein zu erwarten, indem die recht bedeutende Steigerung des Harnstoff-Stickstoffes eine reichliche Resorption mit folgender ausgiebiger Desamidierung anzeigt. Bemerkenswert ist weiter die fehlende oder unbedeutende Steigerung des Aminosäurestickstoffes im Blute nach Eingabe von Witte-Pepton. Diese Versuche bestätigen also durchaus die Befunde, die in meiner früheren Mitteilung veröffentlicht sind. Die bedeutende Steigerung des Harnstoff-N mit 14 mg durchschnittlich oder etwa 100 % beweist, daß die Resorption trotzdem eine ausgiebige gewesen ist.

Hiermit ist bewiesen, daß der Unterschied zwischen den Versuchen mit Gelatine und Eiereiweiß nicht aus einer langsamer verlaufenden Proteolyse des letztgenannten erklärt werden

kann. Diese Folgerung findet auch eine Stütze in dem einen Versuch mit digerierter Gelatine, wo das Blutbild ganz mit den Versuchen über nichtdigerierter Gelatine übereinstimmt.

Wenn man infolgedessen eine Erklärung des prinzipiellen Unterschieds zwischen den Eiereiweißkörpern geben soll, muß man die Konstitution derselben berücksichtigen. Durch die obigen Versuche mit Aminosäuren ist das ungleiche Verhalten verschiedener Aminosäuren zu ermessen, indem Glykokoll mit Alanin auf der einen Seite eine beträchtliche Steigerung des Aminosäuregehaltes im Blute bewirken, während dieselbe Stickstoffmenge in Form von Leucin keine Steigerung veranlaßt. Dagegen ist hier die größte Steigerung des Harnstoffstickstoffes zu finden. Es wäre demgemäß denkbar, daß die Steigerung des Aminosäure-N im Blute nach Einführung von einzelnen Eiweißkörpern im Darmkanal bzw. das Ausbleiben nach anderen von dem Gehalt des Eiweißes an den verschiedenen Aminosäuren bedingt sein könnte. In der folgenden Tabelle IX ist eine Zusammenstellung des Gehaltes der betreffenden Eiweißkörper an Glykokoll, Alanin und Leucin, sowie der durchschnittlichen Steigerung des Reststickstoffes im Blute nach denselben Eiweißkörpern angeführt.

Tabelle IX.

	+ Ur-N	Amino-säure-N	Glykokoll %	Alanin %	Leucin %
Seidenpepton	6	22	36	23	1,5
Gelatine	14	17	16,5	0,8	2,1
Witte-Pepton	13	4	3	3,6	15,0
Eiereiweiß (Ovalbumin)	11	5	0	2,5	6,1
Peptonisiert. Eiereiweiß	7	5	0	2,5	6,1
5 g Leucin	13	0	—	—	—
3 g Glykokoll	5	21	—	—	—
3,5 g Alanin	7	10	—	—	—

Die Zusammenstellung gibt uns eine, wie es scheint, überzeugende Erklärung über das Verhältnis der Eiweißkörper: Die Eiweißkörper, die keine oder nur eine unbedeutende Menge von Glykokoll (bzw. Alanin?) enthalten, geben nach Einführung in den Darmkanal zu keiner Steigerung des Aminosäurestickstoffes im Blut Veranlassung. Solche aber, die einen hohen Glykokollgehalt besitzen, bewirken eine entsprechend große Steigerung des

Aminosäurestickstoffes im Blute, die von einer Ausscheidung von Aminosäure im Harn begleitet ist.

Ist diese Folgerung die richtige, so hat man hiermit die Erklärung für das Ausbleiben der Steigerung des Aminosäurestickstoffes nach Caseinfütterung, Versuche, die in der früheren Mitteilung erwähnt worden sind: Casein enthält kein Glykokoll.

Die Tatsache, daß Gelatine u. a. glykokollreiche Eiweißkörper eine so bedeutende Steigerung des Aminosäurestickstoffes im Blute, die über 1°/₀₀ Glykokoll entspricht oder etwa 100 bis 200°/₀ des normalen Gehaltes von sämtlichen Aminosäuren, bedingen, gibt zu der Überlegung Veranlassung: was ist die Ursache dieser Verschiedenheit, und was bedeutet dieser Unterschied für die Eiweißökonomie des Organismus? Die letzte Frage soll hier nicht weiter erörtert sein. Was aber die erste betrifft, kann man vielleicht eine verschiedene Permeabilität der Leberzellenmembran für verschiedene Aminosäuren als eine Arbeitshypothese aufstellen. A priori sollte man denken, daß das Leucin dank seinen Methylgruppen leichter permeabel sein sollte als Glykokoll, ebenso wie es mit den Alkoholen der Fall ist. Für Muskelzellen hat Overton[1]) ermessen, daß alle Aminosäuren nur sehr langsam durchgängig sind; doch geht hier Leucin etwas schneller als Glykokoll durch.

Diese Ergebnisse lassen sich nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse der Leber überführen. Es war folglich wünschenswert, Spezialversuche an Leberzellen selbst auszuführen.

Als Versuchsmaterialien dienten Leberlappen von Rana fusca. Nach der Exstirpation wurde die Leber nach den Fissuren in drei Läppchen mit der Schere geteilt. Mittels eines feinen Seidenfadens wurden die Läppchen erst einige (3—5) Stunden in isotonische Ringer-Lösung gehängt. Nach der folgenden Wägung mittels einer Torsionswage wurden sie in folgende Lösungen übergeführt: 1. 50 ccm Ringer-Lösung + 50 ccm isotonischer Leucinlösung (1,3 g Leucin zu 50 ccm H_2O), 2. 50 ccm Ringer-Lösung + 50 ccm isotonischer Glykokollösung (0,7 g Glykokoll zu 50 ccm H_2O) und 3. 50 ccm Ringerlösung + 50 ccm Wasser. (Im Versuch 1 wurde das dritte Läppchen doch in isotonische Ringer-Lösung übergeführt.) Nach Verweilen während

[1]) Overton, Arch. f. d. ges. Physiol.

1 bis 2 Tagen in diesen Lösungen wurden die Lappen wieder in isotonische Ringer-Lösung übergeführt. Die Gewichtsänderungen während dieser Zeit wurden mit der Torsionswage registriert, indem die Lappen mit dem Faden immer so weit wie möglich vom Wasser befreit wurden. Die Versuchstemperatur war während des Versuches + 2 bis 3°. Im Versuch 1 und 2 wurde synthetisch dargestelltes Leucin (tadelloses Präparat von Kahlbaum) verwendet, in den Versuchen 3 und 4 ein ebenfalls von Kahlbaum bezogenes Präparat von natürlichem Leucin. Das letzte Präparat war nicht ganz rein. Es löste sich im Wasser mit gelber Farbe und hatte einen Geruch von Fleischpulver. In den Versuchen 3 und 4 wurden die Leucin- und Glykokolllösungen in Ringerlösung mit 1 : 20 000 Soda versetzt.

Die Ergebnisse sind im folgenden tabellarisch zusammengestellt. Die ersten Ziffern entsprechen überall dem Ursprungsgewicht.

Tabelle X.

Versuch 1.

	A 50% Leucinlösung + 50% Ringer-Lösung	B 50% Glykokolllösung + 50% Ringer-Lösung	C 100% Ringer-Lösung
12. II. 1h — p.m. . .	84 mg	146 mg	45 mg
2h 30 p.m. . .	87 „	164 „	46 „
5h 30 p.m. . .	86 „	175 „	43 „
13. II. 5h — p.m. . .	82 „	203 „	47 „
14. II. 10h — a.m. . .	83 „	241 „	45 „

Versuch 2.

	A 50% Leucinlösung + 50% Ringer-Lösung	B 50% Glykokolllösung + 50% Ringer-Lösung	C 50% Ringer-Lösung + 50% H_2O
14. II. 12h 50 p.m. .	173 mg	150 mg	163 mg
2h 50 p.m. .	146 „	158 „	197 „
5h 30 p.m. .	147 „	170 „	208 „
15. II. 10h 50 a.m. .	145 „	196 „	214 „
11h a.m. B und C in isotonische Ringer-Lösung übergeführt.			
1h — p.m. .	— mg	183 mg	154 mg
5h 30 p.m. .	143 „	175 „	154 „
16. II. 12h 30 p.m. .	152 „	149 „	151 „

Versuch 3.

	A 50 % Leucin-lösung + 50 % Ringer-Lösung	B 50 % Glykokoll-lösung + 50 % Ringer-Lösung	C 50 % Ringer-Lösung + 50 % H_2O
15. II. 5h 30 p.m.	217 mg	259 mg	291 mg
6h 30 p.m.	225 „	279 „	346 „
7h 30 p.m.	234 „	281 „	359 „
16. II. 11h — a.m.	246 „	337 „	387 „
5h 30 p.m.	239 „	348 „	379 „
5h 50 p.m. Sämtliche Lappen in isotonische Ringer-Lösung übergeführt.			
6h 30 p.m.	236 mg	345 mg	302 mg
8h 30 p.m.	234 „	327 „	278 „
17. II. 10h 15 a.m.	224 „	295 „	260 „
18. II. 10h — a.m.	218 „	276 „	265 „

Versuch 4.

	A 50 % Leucin-lösung + 50 % Ringer-Lösung	B 50 % Glykokoll-lösung + 50 % Ringer-Lösung	C 50 % Ringer-Lösung + 50 % H_2O
16. II. 5h 30 p.m.	122 mg	129 mg	124 mg
6h 30 p.m.	122 „	133 „	159 „
7h 30 p.m.	125 „	139 „	163 „
17. II. 10h 15 a.m.	127 „	174 „	140 „
Sämtlich übergeführt in isotonische Ringer-Lösung.			
12h 30 p.m.	126 mg	166 mg	110 mg
3h 40 p.m.	118 „	152 „	108 „
7h 15 p.m.	120 „	148 „	104 „
18. II. 10h 15 a.m.	108 „	132 „	100 „

Die obigen Versuche haben ein recht überraschendes Ergebnis geliefert, indem wider Erwarten das an Methylgruppen reichere Leucin nicht oder jedenfalls äußerst langsam in die Leberzellen hineingeht, während das Glykokoll, obwohl viel langsamer als Wasser, doch verhältnismäßig rasch durchdringt. Zwischen dem synthetischen und natürlichen Leucin bleibt der Unterschied, daß nur das synthetische sich vollständig undurchlässig erwiesen hat. Wenn aber das natürliche etwas durchgängig gewesen ist, kommt dies vielleicht auf die Rechnung der Verunreinigungen. Das Präparat gab eine strohgelbe Lösung und besaß einen fleischbrühähnlichen Geruch. Das synthetische Präparat war tadellos. Im Versuche 2 hat der Lappen nach Überführung in Leucinlösung an Gewicht abgenommen. Hier war aber die ursprüngliche Ringer-Lösung etwas

mehr verdünnt als die folgende mit der Leucinlösung verdünnte (0,68 % gegen 0,70 %).

Ebenso wie das Glykokoll bei passender Versuchsanordnung in die Leberzellen hineingehen kann, geht es nach Überführung in isotonische Ringer-Lösung auch wieder verhältnismaßig langsam heraus.

Es erscheint aber recht sonderbar, daß eben die Aminosäure, die ohne größere Schwierigkeit passiv vom Portablut in die Leberzellen hineingeht, nur unvollständig desamidiert wird und dagegen in größerer Menge ins Cavablut übergeht, während das undurchgängige Leucin quantitativ von den Leberzellen desamidiert wird.

Die einzige Erklärung ist wohl, daß das passiv aufgenommene Glykokoll wieder passiv ins Blut übergeht, ehe die vollständige Desamidierung stattgefunden hat. Das Leucin aber wird aktiv von den Leberzellen aufgenommen und kann dann nicht passiv wieder ausdiffundieren.

Über die Verteilung des Reststickstoffes zwischen Blutkörperchen und Plasma.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 5. März 1916.)

In einer früheren Mitteilung[1]) habe ich über Untersuchungen berichtet, nach denen der Harnstoff — wie erwartet — gleichmäßig zwischen Blutkörperchen und Plasma verteilt ist, während die Aminosäurefraktion oft stärker in den Blutkörperchen als im Plasma repräsentiert ist. Doch war in zahlreichen Versuchen die Verteilung auch hier gleichmäßig. Nur ganz ausnahmsweise enthält Plasma mehr Aminosäure-N als die Körperchen.

Die genannten Versuche wurden an guternährten Tieren angestellt. Im folgenden soll über ähnliche Versuche berichtet werden, die vor und nach einer Hungerperiode angestellt wurden. Weiter wurde die Verteilung der Aminosäuren zwischen Körperchen und Plasma nach Eingabe derselben per os studiert.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Verteilung des Reststickstoffes vor und nach Hunger. Es sei bemerkt, daß die Versuchstiere während des Hungers kein Wasser bekamen.

Tabelle I.

Versuch 1.

7 Hungertage.

Vor der Hungerperiode Gewicht 2000 g			Nach der Hungerperiode Gewicht 1650 g		
Rest-N	+ Ür-N	Amino-säure-N	Rest-N	+ Ür-N	Amino-säure-N
Vollblut					
43	17	24	56	31	25
—	20	—	56	30	26
Serum					
34	20	14	50	36	14
35	23	12	46	34	12

[1]) Diese Zeitschr. 72, 114, 1915.

Versuch 2.

7 Hungertage.

Vor der Hungerperiode Gewicht 1900 g			Nach der Hungerperiode Gewicht 1500 g		
Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N	Rest-N	+ Ur-N	Amino-säure-N
		Vollblut			
37	16	21	48	26	22
38	17	21	53	27	26
		Serum			
32	17	15	45	28	17
30	17	13	39	23	16

Die Versuche bestätigen zuerst die früher gefundenen Ergebnisse: Nach Hunger steigt der Reststickstoffgehalt des Blutes, und diese Steigerung betrifft ausschließlich die Harnstofffraktion. Weiter findet man vor dem Hunger auch hier eine gleichmäßige Verteilung des Harnstoffes, während die Körperchen reicher an Aminosäuren als Serum ist. Diese Verteilung bleibt nach dem Hunger unverändert. Der gesteigerte Harnstoffgehalt ist gleichmäßig bei Körperchen und Plasma zu finden, während der Aminosäuregehalt bei Körperchen und Plasma unverändert geblieben ist. Das Plasma enthält vor und nachdem dieselbe Aminosäuremenge, die nicht unbedeutend geringer als der Gehalt der Körperchen ist.

Da nun das Plasma nach 7 Tagen Hunger einen unveränderten Aminosäuregehalt aufweist, kann unmöglich dieser den vom Darmkanal resorbierten Aminosäuren entsprechen. Im Gegenteil müssen sie von den Organzellen bzw. den Blutkörperchen herstammen. Es liegt nahe, anzunehmen, daß die Organzellen die Aminosäuren zum Blute abgegeben haben, die in der Leber desamidiert werden sollen. Recht bemerkenswert ist der konstant gebliebene Gehalt an Aminosäuren, was auf eine Regulation hindeutet. Die Versuche sind doch ungenügend, um etwas Bestimmteres darüber zu sagen.

In den obigen und den früher mitgeteilten Versuchen ist die Verteilung der Aminosäuren im Blute unter normalen Verhältnissen und Hunger festgestellt. Es fragt sich dann wie ist diese Verteilung nach Einführung von Aminosäuren im Blut. Nach Fütterung mit Aminosäuren ist eben eine

solche Steigerung zu finden. Setzt man Aminosäuren zum Blut in vitro, gehen sie aller Wahrscheinlichkeit nach nicht in die Körperchen ein, da Blutkörperchen in isotonischer Glykokoll- und Alaninlösung nicht hämolysiert werden. Sollte es zutreffen, daß diese Steigerung ausschließlich Serum betrifft, wäre hiermit sehr wahrscheinlich gemacht, daß die präformierten Aminosäuren der Körperchen auch nicht vom Serum und weiter vom Darme herstammten. Die einschlägigen Versuche haben folgendes Ergebnis geliefert:

Versuch 1. Das Kaninchen bekam 2 g Glykokoll in 100 ccm Wasser. Vorher und $2^1/_2$ Stunden später wurden Vollblut und Serum untersucht.

Versuch 2. Das Tier bekam 3 g Glykokoll in 100 ccm Wasser. Die Proben wurden vorher und 2 Stunden nach der Eingabe entnommen.

Versuch 3 wie 1.

Tabelle II.

Versuch	Vor dem Infus von Glykokoll.						Nach dem Infus von Glykokoll.					
	Vollblut			Serum			Vollblut			Serum		
	Rest-N	+Ür-N	Amino-säure-N	Rest-N	+Ür-N	Amino-säure-N	Rest-N	+Ür-N	Amino-säure-N	Rest-N	+Ür-N	Amino-säure-N
1	40–42	27	14	42	24	16	48	30	18	47–47	26–28	20
2	45–46	24–27	20	43	26–26	17	56	30	26	58–61	25–27	34
3	39	24	15	34	17–20	15	44	22	22	47–49	21–22	26

Die Versuche zeigen kein ganz übereinstimmendes Ergebnis. Im Versuch 1 ist die Steigerung des gesamten Rest-N's des Vollblutes und des Serums nur unbedeutend, aber doch unzweifelhaft gestiegen, nämlich 6 mg N : 100 g Blut. Dies ist um so exakter bewiesen, da hier das Vollblut und Serum überall miteinander übereinstimmt. Die Steigerung des Aminosäure-N's beträgt ebenfalls für Vollblut und Serum 4 mg N : 100 g Blut. Diese Steigerung erscheint doch so gering, daß sie an der Grenze des Versuchsfehlers liegt, da die Ziffer für Aminosäuren ja allein aus der Differenz zwischen Rest-N und Harnstoff-N gefunden sind. Die Harnstoffwerte differieren ja bis 3 mg, was innerhalb der Fehlergrenzen liegt.

Dagegen sind in den übrigen zwei Versuchen die Ausschläge größer und überhaupt so groß, daß man bestimmte Folgerung ziehen kann. Im Versuch 2 steigt für Vollblut der Aminosäure-N von 20 mg auf 26 mg oder 6 mg N, während in Serum die Steigerung 17 mg N (von 17 mg bis 34 mg) beträgt. Im Versuch 3 sind die resp. Werte 7 mg und 11 mg Aminosäure-N. Die Steigerung ist folglich für Serum in beiden Fällen bedeutend größer als für Vollblut. Geht man von der Annahme aus, daß die Körperchen etwa 50 Volumprozent ausmachen sollten, vorausgesetzt, daß diese Steigerung ausschließlich das Serum betrifft, so beträgt für das Vollblut im Versuch 2 die Steigerung 7,5 mg N gegen gefundene 6 mg, und im Versuch 3 5,5 mg N statt der gefundenen 7 mg. Die Übereinstimmung ist also sehr gut und berechtigt zu der Folgerung, daß nach Resorption von Aminosäuren vom Darme ins Blut sich dieselben ausschließlich oder so gut wie ausschließlich im Plasma befinden. Hieraus kann weiter gefolgert werden, daß die in den Blutkörperchen nachgewiesenen Aminosäuren nicht oder zum geringsten Teil von Plasma und weiter vom Darme herstammen. Sie sind aller Wahrscheinlichkeit nach in den Körperchen selbst gebildet worden.

Zur Mikrobestimmung des Blutzuckers.

Von

Ivar Bang und E. Laurin.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 5. März 1916.)

In einer eben erschienenen Monographie über die Mikromethoden hat der eine von uns[1]) eine Modifikation betreffs der Bestimmung des Blutzuckers mitgeteilt, die darin besteht, daß das mit Blut getränkte Papierstückchen nicht wie gewöhnlich mit einer kochend heißen, sauren Salzlösung versetzt wird, sondern in der Kälte mit einer salzhaltigen Uranylacetatlösung überschichtet wird. Das Eiweiß wird dann vollständig zurückgehalten. Die Vorteile dieses Verfahrens liegen auf der Hand. Vor allem vermißt man die Eiweißspuren, die von der kochenden Salzlösung nicht koaguliert werden und also in die umgebende Lösung herausdiffundieren. Diese Spuren verbrauchen etwas Jod und sind eben die Ursache, daß die Mikrobestimmung etwas (0,01 bis 0,02 %) höhere Werte liefert als die besseren Makromethoden. Bei Verwendung von der Uranyllösung bekam man deswegen nach der Mikromethode und nach Bertrand identische Werte, nämlich 1. 0,063 bis 0,067 % und 2. 0,057 bis 0,056 %. Die nach der ursprünglichen Methode gefundenen Werte waren dagegen 1. 0,077 % und 2. 0,067 % Zucker. Der andere Vorteil des Verfahrens besteht darin, daß das Eiweiß besser am Papier haftet als nach der früheren Methode. Zwar ist dieser Unterschied nicht so markant, da das Eiweiß auch nach der ursprünglichen Methode gut haftet, und wenn einige Forscher, z. B. MacLeod, dies bestreiten, ist die Ursache ein-

---

[1]) Bang, Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile. Bergmanns Verlag, Wiesbaden 1916.

fach, daß ein unzweckmäßiges Papier verwendet worden ist. Doch soll zugegeben werden, daß es bisweilen passiert, daß ein wenig Eiweiß losgeht, was bei der Uranmethode nicht vorkommt, wenn man vorschriftsmäßig einige Minuten mit dem Zusatz der Lösung wartet, bis das Blut ins Papier gut eingesaugt worden ist.

Weiter ist es bequemer, eine kalte als eine heiße Flüssigkeit zuzusetzen. Und schließlich geht der ganze Vorgang auch schneller. Nach dem neuen Verfahren ist die Diffusion des Zuckers auch im Laufe einer halben Stunde beendet. Die betreffende Uranlösung wurde einfach so bereitet, daß man zu der ursprünglichen salzsäurehaltigen Kaliumchloridlösung Uranylacetat bis 5 ‰ hinzufügte. Nach erreichter Auflösung des Urans ist die Lösung fertig. Da indessen diese Uranlösung gelb gefärbt ist, bekommt man bei der Jodtitrierung statt einer schön blauen Farbe eine grünliche Mischfärbung als Endpunkt, die vielleicht, speziell ohne besondere Übung, den Umschlagspunkt etwas beeinträchtigt. Es wurde deswegen versucht, die Uranmenge weiter zu beschränken, bis die gelbe Farbe sich nicht geltend machen kann. Als Kontrolle wurde der Blutzuckergehalt in einer größeren Blutmenge (33,5 g und 42,1 g) nach Bertrand festgestellt. Das Blut wurde von Kaninchen entnommen. Die Mikrobestimmungen wurden auch mit dem Aderlaßblut angestellt. Die Bestimmungen nach Bertrand und nach der Mikromethode wurden von B. und L. von einander unabhängig ausgeführt und die Ergebnisse erst nachher verglichen.

Tabelle I.

Uranylacetat . .	0,5 ‰	1,5 ‰	2,5 ‰	5,0 ‰
Blutzuckergehalt	0,13 %	0,10 %	0,10 %	0,11 %
"	0,15 %	0,11 %	0,09 %	0,10 %
"	0,18 %	0,11 %	0,10 %	0,09 %
Durchschnitt . .	0,15 %	0,104 %	0,096 %	0,10 %

Nach Bertrand gefunden: 0,102 %.

Nach der Tabelle genügt ein Uranylacetatgehalt von 1,5 ‰, während 0,5 ‰ Uran unzureichend ist. Hier war auch die unvollständige Eiweißkoagulation direkt sichtbar. In einem anderen Versuch an einem adrenalinvergifteten Kaninchen wurde

mittels 1,5 ‰ Uranyllösung erhalten: 0,270 % — 0,270 % — 0,268 % und nach Bertrand 0,273 %.

Die Versuche dürften beweisen können, daß schon ein Zusatz von Uranylacetat bis 1,5 ‰ genügend ist. Da das Eiweiß hier gut am Papier haftet und da weiter der Umschlagspunkt bei der Jodtitrierung scharf und rein blau ist, ist 1,5 ‰ Uran der ursprünglich vorgeschlagenen 5 ‰-Lösung vorzuziehen.

Außer dem Vergleich zwischen Bertrand (der Makromethode) und der Mikromethode mit Verwendung von 1,5 ‰ Uran wurden vergleichende Versuche mittels dieser Uranmethode und dem früheren Verfahren mit kochender Salzlösung angestellt. Diese Versuche sind in der Tabelle II zusammengestellt.

Tabelle II.

	Kaninchen				
	Nr. 1 %	Nr. 2 %	Nr. 3 %	Nr. 4 %	Nr. 5 %
Uranmethode	0,11—0,11—0,11	0,12—0,12—0,13	0,10—0,11—0,11	0,12—0,11—0,11	0,27—0,27—0,28
Frühere Methode	0,13—0,12—0,13	0,11—0,11—0,13	0,12—0,13—0,13	0,13—0,14—0,14	0,30—0,30—0,30

Aus diesen und anderen damit übereinstimmenden Versuchen ist ersichtlich, daß die frühere Methode, wie schon mehrere Verfasser gefunden haben, etwas zu hohe Werte liefert. Dasselbe wurde übrigens schon von dem einen von uns (B.) durch Vergleich zwischen der Uranmethode (5 ‰ Uranacetat) und der früheren Methode nachgewiesen (siehe „Mikromethoden" l. c.). Weiter ist ersichtlich, daß die frühere Methode nicht so regelmäßige Werte wie die Uranmethode liefert. Dies ist auch zu erwarten, da die nicht koagulierte Eiweißmenge keinen absolut konstanten Faktor bildet. Besonders hat es sich erwiesen, daß der Unterschied dort am größten ist, wenn das Eiweiß nicht vollständig an das Papier koaguliert und zum Teil in koagulierter Form in der Lösung vorkommt. Die Uranmethode ist also auch in dieser Beziehung genauer.

Betreffs der Darstellung der uranhaltigen Salzlösung werden 1360 ccm gesättigte Kaliumchloridlösung (das KCl darf keine Verunreinigungen enthalten!) mit 1,5 ccm 25 %iger Salzsäure-

lösung versetzt. 3 g Uranacetat werden in 2 bis 300 ccm Wasser gelöst, die Lösung zu der Salzlösung gesetzt und diese auf 2 l ergänzt.

Hat man, besonders bei Verwendung der Uranmethode, größere Zuckermengen — 0,3 mg und darüber — zu bestimmen, bekommt man keinen so scharfen Umschlagspunkt wie bei geringeren Zuckerquantitäten. Dieser Unterschied ist doch nur bei Verwendung von $^{n}/_{200}$-, nicht aber bei $^{n}/_{100}$-Jodlösung zu finden. Die Ursache ist, daß eine größere Quantität Jodkalium den Umschlagspunkt beeinträchtigt, und bei Titrierung mit $^{n}/_{200}$-Jodlösung wird die doppelte Menge Jodlösung (und also auch JK) zugesetzt. Aus diesem Grunde haben auch einige Forscher, welche die $^{n}/_{100}$-Jodlösung anfangs benutzten, diese der $^{n}/_{200}$-Jodlösung vorgezogen. Indessen läßt sich diese kleine Unannehmlichkeit leicht beseitigen. Bei Verwendung von $^{n}/_{200}$-Jodlösung braucht man nämlich nur die Hälfte Jodkaliummenge gegen die $^{n}/_{100}$. Folglich soll man nur 1 g Jodkalium statt 2 g abwägen. Hierzu werden 2 ccm 2 $^{0}/_{0}$iger Kaliumjodatlösung und 5 ccm $^{n}/_{10}$-Salzsäure oder Schwefelsäure gesetzt und das Volumen mit destilliertem, kohlensäurefreiem Wasser auf 100 ccm ergänzt. Diese Lösung darf zuerst nach dem Stehen während 5 bis 10 Minuten verwendet werden. Sie ist vor Licht geschützt im Winter mindestens 2 Tage haltbar.

Über den Wassergehalt des Blutes.

Von

Gunnor Blix.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 5. März 1916.)

Mit 3 Figuren im Text.

Bekanntlich liegen schon recht zahlreiche Untersuchungen über den Wassergehalt des Blutes unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen vor. Was aber bis jetzt vollständig fehlt, sind systematische Serienuntersuchungen, die die Variationen der Wassermenge registriert haben. Da immer fortlaufend Wasser in und aus dem Blute geht, muß man entweder physiologische — eventuell in noch größerem Maßstabe pathologische — Oscillationen des Wassergehaltes erwarten können. Hier sagen also einzelne Proben herzlich wenig.

Dank der Bangschen Mikromethode zur Bestimmung des Wassergehaltes im Blute ist man nun imstande, ebenso bequem Serienuntersuchungen über das Wasser wie über andere Blutbestandteile, wie Zucker, Chloride usw. anzustellen. Ich habe deswegen gern einer Aufforderung Prof. Bangs Folge geleistet, den Wassergehalt des Blutes und seine Variationen besonders unter physiologischen Bedingungen näher zu studieren. Hierzu kommen einige Untersuchungen über die Veränderungen des Wassergehaltes während toxischer Nephritis. Aus äußeren Gründen hat die Arbeit nicht die beabsichtigte Vollendung erhalten. Die Versuchstiere waren ausschließlich Kaninchen.

Betreffs der Mikromethode verweise ich auf die „Methoden zur Mikrobestimmung einiger Blutbestandteile“ von Bang (Bergmanns Verlag, 1916) und möchte nur als meine persönliche Erfahrung folgendes bemerken: Im Prinzip besteht das

Verfahren darin, daß das mit Blut getränkte Papierstückchen vor und nach dem Trocknen bei 100° gewogen wird. Da das Gewicht des Papiers allein zuerst ermittelt wird, hat man alle Data für die Berechnung. Das Papier muß zuerst bis zum konstanten Gewicht getrocknet werden. Es genügt hierzu das Verweilen während einer Stunde im Trockenschrank bei 100° und nachher wieder eine Stunde im Exsiccator. Nach der Wägung, die etwa 15 Sekunden in Anspruch nimmt und wobei ca. 0,1 mg Wasser aus der Luft aufgenommen wird, numeriert man das Papier und überführt es wieder in den Exsiccator.

Bei der Blutentnahme darf das Blut nicht ausgepreßt werden, sondern muß freiwillig ausquellen. Das blutgetränkte Papier wird augenblicklich wieder gewogen. Während der Aufsaugung des Blutes und der Wägung, was zusammen etwa 30 Sekunden dauert, verdunstet Wasser. Die Gewichtsabnahme ist durchschnittlich etwa 0,6 mg. Das bluthaltige Papier wird wieder 1 Stunde bei 100° und 1 Stunde im Exsiccator getrocknet und schließlich gewogen. Während der dritten Wägung nimmt es wieder etwa 0,1 mg Feuchtigkeit auf. Diese Fehlerquellen zusammengenommen bedingen, daß die prozentuale Trockensubstanz etwa 0,1% zu hoch gefunden wird, was doch etwa in die Fehlergrenze der Methode fällt. Was das Verfahren übrigens leistet, geht aus den folgenden zahlreichen Doppelbestimmungen hervor.

Tabelle I.

	Nr. 1 %	Nr. 2 %	Nr. 3 %	Nr. 4 %
Präformiert . . .	14,9 15,3	17,3 —	17,7 17,7	16,0 16,1
1 Tag Hunger . .	15,9 16,1	18,4 —	18,6 18,6	— —
2 Tage „ . .	16,9 17,3	18,5 18,7	19,6 —	18,1 17,8
3 „ „ . .	16,8 17,3	18,8 —	20,1 —	19,0 18,8
4 „ „ . .	17,3 17,4	— —	— —	18,9 19,1
5 „ „ . .	17,0 —	19,2 19,2	21,0 —	19,3 19,1
6 „ „ . .	—	18,9	—	19,1
Absolute Steigerung	2,1	1,9	3,3	3,3
Prozentuale „	11,4	11,1	11,9	11,8

1. **Das Verhalten des Wassers beim Hunger.** In diesen Versuchen bekamen die Tiere keine Nahrung und auch kein Wasser. Der Wassergehalt wurde täglich in derselben Zeit (vormittags) bestimmt. Die angeführten Werte entsprechen der Trockensubstanz.

Aus den angeführten Werten ist ersichtlich, daß die Trockenmasse des Blutes unmittelbar nach dem Anfang des Hungers zu steigen anfängt. Diese Steigerung wird die zwei ersten Tage fortgesetzt. Von jetzt ab aber bleibt der Wassergehalt unverändert und sinkt die folgenden Hungertage nicht weiter ab. Dies Verhältnis ist konstant und von dem ursprünglichen Wassergehalt des Tieres, der recht variabel ist, unabhängig, wie die folgende Tabelle und Kurve über die relative Steigerung während der verschiedenen Hungertage zeigen kann.

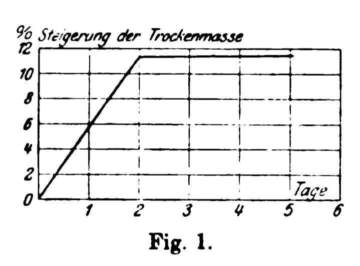


Fig. 1.

Tabelle II.

	Nr. 1 Steigerung %	Nr. 2 Steigerung %	Nr. 3 Steigerung %	Nr. 4 Steigerung %
1. Hungertag	6,0	7,0	5,6	—
2. „	11,3	7,0	11,0	11,4
3. „	11,3	8,0	11,4	11,7
4. „	11,4	—	11,4	11,7
5. „	—	11,1	—	11,8

Es ist weiter ersichtlich, daß die relative Steigerung den ersten Tag 5 bis 6% entspricht. Den zweiten Tag ist der Wassergehalt mit etwa der doppelten Quantität oder 11,0% gesunken und bleibt später konstant. Nur Versuch Nr. 2 macht in dieser Beziehung eine Ausnahme, indem hier die Steigerung der Trockenmasse etwas langsamer fortgeht und erst den fünften Tag die gewöhnlichen 11% erreicht.

In seinen Untersuchungen über den Reststickstoff des Blutes hat Bang[1]) nachgewiesen, daß der Rest-N oder mehr präzis der Harnstoff-N während des Hungers fortwährend zunimmt. Als Ursache hierfür wurde die Wasserarmut des

[1]) Bang, diese Zeitschr. 72, 104f., 1915.

Organismus gefunden, indem eine Zufuhr von Wasser diese Steigerung des Rest-N verhindert. Diese Auffassung findet durch die Versuche über das Verhalten des Wassers eine bestimmte Stütze. Anfangs wird ja mehr Wasser aus dem Blute abgegeben, als die Zufuhr (die hier allein dem durch die Verbrennung freigemachten Wasser entspricht) bedingt. Folglich steigt der Gehalt des Blutes an festen Stoffen. Später aber hält das Blut (wenn man es so ausdrücken will) sein Wasser fest, die Ausscheidung wird vermindert und demzufolge für die Elimination des Harnstoffes ungenügend.

2. Das Verhalten des Wassers im Blute nach Einführung per os. Während in den früheren Versuchen die täglichen Variationen des Wassers interessiert haben, kommen für die folgenden Versuche die stündlichen hauptsächlich in Betracht. Die Versuche sind teils an wohlgenährten, teils an Hungerkaninchen ausgeführt worden und zwar an den obigen Hungertieren unmittelbar nach Abschluß der Hungerperiode. Die eingeführte Wassermenge war 150, 100 und 25 ccm. In der folgenden Tabelle III sind die Ergebnisse an wohlgenährten Tieren zusammengestellt. Nr. 1 und 2 bekamen 150 ccm Wasser, Nr. 3, 4 und 5 25 ccm Wasser mit der Sonde.

Tabelle III.

	Nr. 1 %	Nr. 2 %	Nr. 3 %	Nr. 4 %	Nr. 5 %
Präformierte Trokkenmasse . . .	17,2	17,8	16,4—16,7	17,5—17,5	16,4—17,0
30′ n. Zufuhr v. H_2O	17,4	—	16,2	15,4—15,4	16,3
1h	—	—	16,2	15,9	15,4
1h30′	16,3	17,3	—	—	15,3
2h	—	—	15,6	15,9	—
2h30′	—	16,4	15,5	—	15,0
3h	—	—	16,3	15,9	—
3h30′	—	—	—	—	15,5
4h30′	—	15,8	—	—	—
5h	—	—	—	16,5	—
5h30′	16,4	16,7	—	—	—
6h	—	—	16,7	—	16,2
7h	—	—	16,6	—	—
7h30′	15,7	—	—	—	—
8h	17,4	—	—	—	—
Absolute Steigerung des H_2O . . .	1,5	2,0	1,1	1,6	1,7
Prozentige Steigerung des H_2O .	10	11,3	8,5	11,0	11,1

Aus den Versuchen geht erstens die recht überraschende Tatsache hervor, daß eine Zufuhr von 25 ccm Wasser eine ebenso große Steigerung des Wassergehaltes wie die 6 fache Menge 150 ccm bedingt. Eine Erklärung hierfür ist nicht leicht zu geben. Diese Tatsache gewinnt an Interesse, wenn man an die analogen Verhältnisse nach Einführung von Zucker, Aminosäuren (und Harnstoff) erinnert, wie die Untersuchungen von Bang und Böe zeigen. Auch hier findet man z. B. nach Einführung von 1 bis 2 g Glykose oder 2 bis 3 g Glykokoll eine ebenso große Steigerung im Blute wie nach Eingabe von der fünffachen Menge. Es scheint also, als ob für die Resorption vieler verschiedener Körper gemeinsame Gesetze vorliegen.

Ein nicht geringeres Interesse können die zeitlichen Verhältnisse beanspruchen. In der folgenden Tabelle ist die prozentuale Steigerung bis zum Maximum je nach dem Zeitmoment zusammengestellt.

Tabelle IV.

	Nr. 1 %	Nr. 2 %	Nr. 3 %	Nr. 4 %	Nr. 5 %
30′ n. d. Zufuhr v. H_2O	0	—	2	11	1
1^h	—	—	2	—	6
$1^h30'$	5	3	—	—	7
2^h	—	—	5	—	11
$2^h30'$	5	8	8,5	—	—
$4^h30'$	—	11,3	—	—	—
$7^h30'$	10	—	—	—	—

Nach Einführung von 150 ccm Wasser ist das Maximum der Steigerung erst nach $4^1/_2$ bis $7^1/_2$ Stunden zu finden, während nach Zufuhr von 25 ccm das Maximum 30 Minuten bis $2^1/_2$ Stunden später eintritt. Eine viel geringere Wassermenge scheint demgemäß viel rascher resorbiert zu werden. Der Verdacht bleibt doch nach dem angeführten Versuchsmateriale, daß die Wasserresorption tatsächlich einen mehr komplizierten Mechanismus darstellt, und daß auch andere Faktoren hier mit im Spiele sind. Die Ergebnisse laden demzufolge zu fortgesetzten, mehr eingehenden Untersuchungen ein. Schließlich ist es nicht uninteressant, konstatieren zu können, daß die Steigerung und das Sinken des Wassergehaltes nach Wassereinnahme und Hunger beide ein Maximum von 11 % erreichen.

Nach den angeführten Versuchen kann kein Zweifel darüber herrschen, daß das resorbierte Wasser rasch, aber nicht vollständig aus dem Blute verschwindet. Teilweise wird es durch die Nieren eliminiert. Leider habe ich keine Untersuchungen über diese Quantität angestellt. Spontan wurde während des Versuches kein Harn abgesondert (was sehr wenig sagt). Zum Teil wird doch das Wasser wahrscheinlich von den Geweben aufgenommen. Von dieser Eventualität aus hat es Interesse, nachzusehen, wie Hungertiere, die kein Wasser bekamen, sich nach Wasseraufnahme verhalten, da man hier vermuten kann, daß die Gewebe etwas wasserarm geworden sind. Die folgenden Versuche an den oben referierten Hungerkaninchen können hierüber orientieren. Nr. 1 bekam den 6. Hungertag morgens 150 ccm Wasser, Nr. 2 ebenfalls 150 ccm den 7. Hungertag. Nr. 3 bekam den 7. Hungertag 100 ccm Wasser.

Tabelle V.

	Nr. 1 %	Nr. 2 %	Nr. 3 %
Präformiert	17,0	18,9	19,1
1 St. n. Zufuhr v. H_2O . .	17,1	—	18,8
2 „ „ „ „ „ . .	16,2	17,7	17,1
3 „ „ „ „ „ . .	16,4	—	—
4 „ „ „ „ „ . .	16,4	17,4	—
5 „ „ „ „ „ . .	15,8	—	18,0
6 „ „ „ „ „ . .	15,4	16,3	—
7 „ „ „ „ „ . .	14,8	—	18,7
Absolute Steigerung des H_2O	2,2	2,6	2,0
Prozentuale „ „ „	11,5	11,5	11,2

Wie ersichtlich, ist die absolute Steigerung des Wassergehaltes etwas größer bei Hungertieren, was wahrscheinlich mit dem niedrigen Anfangswert zusammenhängt. Dies wird auch durch die Tatsache bestätigt, daß die relative Steigerung genau dieselbe ist wie an wohlernährten Tieren. Zwei von drei Versuchen zeigen ebenfalls ein sehr spät eingetretenes Maximum der Steigerung wie in den früher besprochenen Versuchen. Im Versuch Nr. 2 wurde der Wassergehalt wieder nach 24 Stunden bestimmt. Gefunden wurden 17,8 bis 18,2 % Trockensubstanz. Ein Teil des Wassers ist also wieder aus dem Blute eliminiert worden.

3. Das Verhalten des Wassers im Blute bei Sub-

limatnephritis. In den von Prof. Bang schon publizierten Untersuchungen über Sublimat- und Chromatnephritis[1]) bei Kaninchen wurden auch systematische Bestimmungen über den Wassergehalt des Blutes ausgeführt, die mir von Prof. Bang für diese Publikation überlassen worden sind. Ausführlichst ist die Sublimatnephritis untersucht worden. Nur diese Ergebnisse sollen hier mitgeteilt werden.

Drei Serien sind ausgeführt worden. Das erste Kaninchen bekam bei gutem Nahrungszustand 10 mg Sublimat subcutan und wurde die ganze Versuchszeit mit Rüben und Kohlblättern gefüttert. Nur eine unbedeutende Steigerung des Harnstoff-N war zu finden, und das Tier überlebte ohne Folgen die Vergiftung. In der folgenden Tab. VI sind die Ergebnisse zusammengestellt.

Tabelle VI.

Tage	Nr. 1[2])	Nr. 2	Nr. 3	Nr. 4	Nr. 5	Nr. 6
Gewicht des Kaninchens . .	3800 g	—	—	3500 g	3400 g	3500 g
Harnstoff-N . .	5—6 mg[3])	11—20 mg	22—22 mg	22—24 mg	16—19 mg	15—16 mg
Feste Stoffe des Blutes . . .	19,2 „	18,1 „	18,3 „	16,4 „	16,7 „	17,2 „
do.	19,8 „	17,8 „	18,8 „	15,7 „	16,4 „	17,7 „
Harnmenge . .	— „	125 ccm	120 ccm	140 ccm	290 ccm	92 ccm
Albumin . . .	— „	0 „	Spuren	+	Spuren	Spuren

Während der Harnstoff kaum retiniert worden ist, ist das Blut schon zu einem gewissen Grade hydrämisch geworden. Die gleichzeitige reichliche Harnausscheidung ist bemerkenswert; ebenso die nicht unbeträchtliche Gewichtsabnahme, trotzdem das Tier Futter ad libitum bekam. Es liegt recht nahe, anzunehmen, daß die Hydrämie die Polyurie verursacht hat und daß das Sinken der Harnausscheidung den 6. Tag von dem sinkenden Wassergehalt des Blutes abhängt. Die Verhältnisse während des Hungers geben dieser Auffassung eine Stütze.

Die folgenden Versuche umfassen zwei Tiere, von denen das erste nur 5 mg $HgCl_2$, das andere 15 mg $HgCl_2$ bekamen. Das erste Tier bekam von dem Tag vor der Injektion bis zum zweiten Versuchstag kein Futter (und kein Wasser), später war

[1]) Diese Zeitschr. 72, 146, 1915.

[2]) Tag der Vergiftung.

[3]) Auf 100 g Blut berechnet.

die Nahrung Hafer und Wasser — also stark eiweißhaltig. Das Tier fraß doch nur wenig. Das zweite Tier bekam zuerst 10 mg HgCl ohne Wirkung und 3 Tage nachher 15 mg $HgCl_2$. Es nahm nur sehr wenig Nahrung anfangs, später gar nichts.

Tabelle VII.

	Versuch Nr. 1				Versuch Nr. 2			
	Feste Stoffe %	+ Ur-N mg	Harn ccm	Albumin	Feste Stoffe %	+ Ur-N mg	Harn ccm	Albumin
Tag vor Injektion	16,5–15,9	16—16	—	—	17,2–17,6	8—12	212	0
Injektionstag .	16,6–16,5	42—38	120	—	16,2–16,8	30—34	3	—
2. Tag	15,2–15,0	104	0	—	13,3–13,7	151—151	13	+++
3. „	15,3–15,6	153—159	95	++	12,0–12,3	205	15	+++
4. „	15,3–15,3	170—179	90	—	13,1–14,1	308—318	60	Spuren
5. „	18,0–18,5	144—151	160	—	15,5–16,0	316	86	„ +
6. „	16,9–17,1	236—220	54	—				
7. „	14,7–15,2	230—220	148	—				
8. „	15,2–15,7	237—230	156	0				
9. „	15,2–14,7	256	245	0				
10. „	14,2–14,2	248	165	0				
11. „	13,5–14,1	252	156	0				
12. „	13,4–13,6	226	65	0				
13. „	14,3–14,4	300	+	—				
	Gewichtabnahme 1800—1550 g				Gewichtabnahme 2400—1900 g			

Das interessanteste Ergebnis dieser zwei Versuche ist die Hydrämie, die trotz der fehlenden Wasseraufnahme eine bedeutende Größe erreicht (12 bzw. 14 % Verminderung der Fixa). Es ist weiter ersichtlich, daß dieselbe, wie Versuch Nr. 1 zeigt,

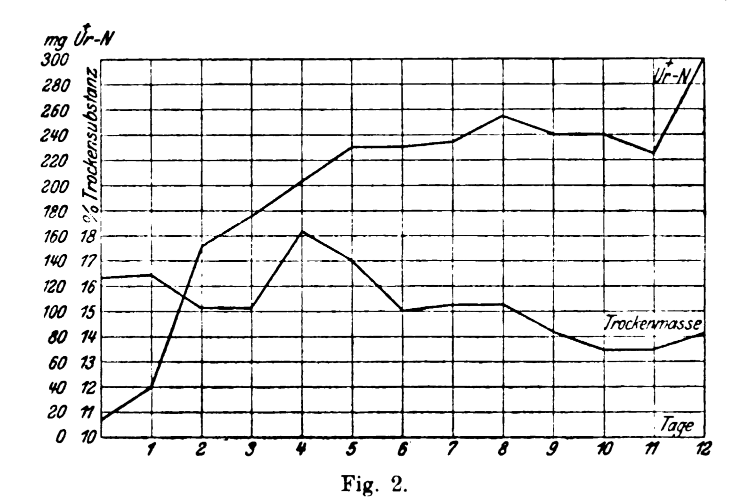


Fig. 2.

sogar ansteigt, wenn die Harnabsonderung eine sehr ausgiebige geworden ist. Eine ungenügende Harnsekretion kann folglich nicht die Ursache dieser Hydrämie darstellen. Doch ist es bemerkenswert, daß im Versuch Nr. 1 den 5. Tag, da die Polyurie einsetzt, der Wassergehalt des Blutes rasch absinkt. Die folgende Zeit kann doch die Polyurie nicht die Hydrämie verhindern. Im Versuch Nr. 2 ist es weiter bemerkenswert, wie schnell die Hydrämie zustande kommt. Es ist in dieser Beziehung interessant, zu finden, daß die Harnstoffretention hier gleichzeitig in die Höhe steigt. Dasselbe Ergebnis ist auch, obwohl weniger ins Auge springend, im Versuch Nr. 1 zu finden, was wahrscheinlich damit zusammenhängt, daß die Intoxikation hier langsamer einsetzt. Es liegt dann recht nahe, diese zwei Tatsachen in Konnex zu setzen: Der Wassergehalt steigt wegen der Harnstoffretention. Der Organismus versucht, dadurch die Harnstoffkonzentration zu vermindern. Dies kann jedoch unmöglich richtig sein, da der Harnstoff als für die Zellen durchlässig sich doch recht gleichmäßig überall verteilen muß. Geben dann die Organe Wasser zum Blut, so müßte dadurch eine noch konzentriertere Harnstoffkonzentration dieser Gewebe eintreten, was kaum einen Vorteil bedingen kann. Man könnte weiter denken, daß sowohl die Steigerung des Wassergehaltes wie die Harnstoffretention beide von der Insuffizienz der Niere bedingt seien. Dies ist doch recht unwahrscheinlich, da schließlich der Wassergehalt trotz fortgesetzter Steigerung der Harnstoffretention zu sinken anfängt. Weiter kann man auf die Polyurie verweisen. Die Wasserausscheidung ist die ganze Zeit (nach dem ersten akuten Stadium) doch sehr ausgiebig, während die Harnstoffausscheidung immer mehr herabgesetzt wird.

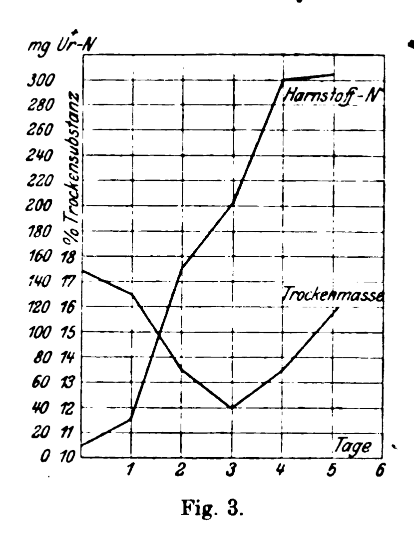


Fig. 3.

Eine zufriedenstellende Erklärung der Hydrämie ist folglich aus den vorliegenden Daten kaum möglich. Die Versuche müssen zweifellos auf einer breiteren Basis aufgebaut werden. Hierzu dürften die schon gefundenen Ergebnisse einladen, da sie u. a. doch zeigen, daß das Wasser des Blutes eigentümliche Schwankungen unter physiologischen und pathologischen Verhältnissen aufweisen kann, die mit Vorteil dank der Mikromethode verfolgt werden können.

Über Pentosane und die sogenannten Furfuroide.

Von

Eduard Kunz.

(Mitteilung aus dem gärungschemischen Laboratorium der Kgl. technischen Hochschule München.)

(Eingegangen am 7. März 1916.)

Die einfachen Zuckerarten mit nur fünf Kohlenstoffatomen, die sogenannten Pentosen, sind erst seit verhältnismäßig kurzer Zeit bekannt. In Form ihrer Anhydride (Pentosane), unter denen Kirschgummi und Holzgummi die bekanntesten sind, kommen Arabinose und Xylose als wichtigste Vertreter dieser Gruppe in den verschiedensten Naturprodukten vor; allein ihre weite, fast allgemeine Verbreitung wurde erst durch die verdienstvollen Untersuchungen Tollens[1]) und seiner Schüler bekannt.

Mit der steigenden Erkenntnis der Wichtigkeit dieser Körper wuchs auch das Bestreben, sie quantitativ genau zu bestimmen. Beim Destillieren mit Salzsäure oder Schwefelsäure liefern Pentosen und Pentosane annähernd die Hälfte ihres Gewichts an Furfurol, und wenn es gelang, dieses Furfurol in eine zur Wägung geeignete Verbindung überzuführen, so war das Problem gelöst. Die Fällung mit Ammoniak[2]), Phenylhydrazin[3]) und Phloroglucin[4]) bezeichnen die Hauptetappen in der Entwicklung der sogenannten „Pentosanbestimmungen".

Da aber außer Pentosen und Pentosanen kein Naturprodukt bekannt war, das größere Mengen Furfurol liefert (Glucoronsäure kommt als solche nicht frei vor), so glaubte man bis zu dieser Zeit auch allgemein, daß, wenn eine Substanz Furfurol

---

[1]) Landw. Versuchsst. **39**, 425.

[2]) Annal. d. Chem. **249**, 227.

[3]) Landw. Versuchsst. **42**, 381.

[4]) Chem.-Zeitg. **18**, 966, 1894, und Zeitschr. f. angew. Chemie **1896**, 45.

lieferte, Pentosane in ihr enthalten sein müßten. Tatsächlich konnten auch in den meisten Fällen Arabinose oder Xylose aus solchen Körpern dargestellt oder doch wenigstens sicher darin nachgewiesen werden.

Zwei englische Forscher, Cross und Bevan, waren die ersten, die dem widersprechen zu müssen glaubten und den Anstoß zur weiteren Untersuchung dieser Frage gaben. Sie untersuchten[1]) die Produkte, die bei der Oxydation von Stärke, Rohrzucker und Milchzucker mittels Chromsäure entstehen und fanden, daß auch diese Körper beträchtliche Mengen Furfurol lieferten. Sie zogen daher den Schluß, „daß die Bildung von Furfurol noch keine endgültige Entscheidung bezüglich der Hexosen oder Pentosenkonfiguration zulasse". Bei der Untersuchung von Lignocellulosen oder Oxycellulosen und deren Aufspaltung in verschiedene Gruppen treffen sie des weiteren auf einen Komplex, den sie für verschieden von den Pentosanen halten, obwohl er 50 $^0/_0$ Furfurol liefern soll. Der Versuch, durch Oxydation nach erfolgter Hydrolyse wohlcharakterisierte Säurederivate mit 6 oder 5 Kohlenstoffatomen zu erreichen, blieb jedoch erfolglos. In ihrer nächsten Veröffentlichung[2]) beschreiben sie eine „Oxycellulose" aus Haferstroh und Spartgras, die mehr Sauerstoff und weniger Kohlenstoff als normale Baumwollcellulose $(C_6H_{10}O_5)_n$ besitzen soll, mit HCl zwar Furfurol liefert, die aber trotzdem keine der Reaktionen von Pentosen oder Pentosanen zeigt und von diesen auch durch ihre verhältnismäßige Beständigkeit bei alkalischer Hydrolyse unterschieden sein soll. Sie betonen deshalb ausdrücklich, daß es sich um keine Pentosen oder Pentosane handeln könne.

Dem gegenüber erklärt de Chalmot[3]), daß bis jetzt noch alle furfurolliefernden Substanzen sich im wesentlichen als Pentosen erwiesen haben. Die Ableitungen von Cross und Bevan bezeichnet er als problematischer Natur. Später[4]) stellt de Chalmot eine Hypothese auf, wonach Pentosenmoleküle in Komplexen von kondensierten Hexosenmolekülen entstehen sollen.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 2520.
[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27. 1061, 1895.
[3]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27, 1489.
[4]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 27, 2722.

1895[1]) weist er bei im Dunkel entwickelten Pflanzen tatsächlich Pentosane nach und wendet sich wie auch Stone[2]) nochmals gegen die Anschauungen von Cross und Bevan.

Diese verteidigen jedoch ihre Ansicht[3]), wonach in den Oxycellulosen noch keine Pentosane vorliegen, bestreiten aber auch nicht die Möglichkeit, daß bei der Salzsäuredestillation intermediär Pentosen entstanden sein könnten. Für diese nichtpentosanartigen furfurolliefernden Körper gebrauchen sie[4]) in Übereinstimmung mit Hancock und Dahl[5]) den Namen Furfuroide und halten sie für oxydierte Abkömmlinge der Hexosen mit noch intakter 6 atomiger Kohlenstoffkette.

Tollens und de Haas[6]), sowie Tollens und Krüger[7]) bestätigen das Vorkommen furfurolliefernder Körper, die die rote Pentosenreaktion nicht geben — „und dies deutet in der Tat darauf, daß in diesen Fällen nicht Pentosen oder Glucoronsäure die Ursache der Furfurolbildung sind, sondern etwas anderes". Tollens und Suringar[8]) weisen in manchen „Cellulosen" noch ziemlich viel echtes Pentosan nach, andere dagegen liefern wohl Furfurol, doch geben sie keine Pentosenreaktion, sollen also wahrscheinlich „Oxycellulosen" enthalten.

1896[9]) gebrauchen Cross, Bevan und Beadle den Namen Furfuroide als Sammelbegriff und sprechen das erstemal von leicht hydrolisierbaren Furfuroiden (= Pentosane) im Gegensatz zu den schwer hydrolisierbaren Gewebe- (tissue-) Furfuroiden.

Bald darauf veröffentlichten Cross, Bevan und Smith[10]) sehr eingehende und genaue Untersuchungen über die Trennung der Furfuroide vom übrigen Zellulosekomplex und deren Eigenschaften, auf die näher einzugehen notwendig ist, insbesondere

---

1) Amer. Chem. Journ. **16**, 589.
2) Chem. News **71**, 40.
3) Journ. of the Amer. Chem. Soc. **17**, 286 und Chem. News **71**, 68.
4) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **28**. 1940 und 2604.
5) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **28**, 1558.
6) Annalen 286, 296 und 301.
7) Zeitschr. f. angew. Chem. **1896**, 45.
8) Zeitschr. f. angew. Chem. **1896**, 746.
9) Journ. Amer. Chem. Soc. **18**, 8.
10) Journ. of the Chem. Soc. of London **69**, 804, 1896; Chem. News **73**, 228; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **29**, 1457.

wegen der nachfolgenden Untersuchungen, die teilweise denselben Weg einschlagen. Die Autoren halten die Getreidecellulosen für einen Komplex von Hexosengruppen, verbunden mit einer Pentosengruppe. Daß letztere aber als solche vorhanden ist, soll sehr unwahrscheinlich sein wegen der Beständigkeit dieser Cellulosen gegen Alkalien, und weil sie nicht mit Phloroglucin und Salzsäure die charakteristische Reaktion der Pentosane liefern. Zur Trennung der Furfuroide vom übrigen Cellulosekomplex untersuchten sie Biertreber und versuchten einerseits die Auflösung in Schwefelsäure 1,55—1,65 spez. Gew. und Ausfällen der normalen Cellulose durch Verdünnen mit Wasser. Die Lösung enthielt die Furfuroide, die jedoch unvollständig hydrolisiert waren und keine Pentosenreaktion gaben.

Andererseits versuchten sie, von vornherein ausschließlich die Furfuroide in Lösung zu bringen durch Behandeln mit verdünnter H_2SO_4 unter Druck. Am besten erwies sich die Einwirkung von 1 % H_2SO_4 15 Minuten bei 3 Atm. Die erhaltene Lösung enthält die Furfuroide fast quantitativ in nahezu reinem Zustand, wie die hohe Furfurolausbeute 38 bis 42 % der Trockensubstanz beweisen soll. Den in Lösung befindlichen Körpern schreiben sie die Formel eines Pentosemethylenäthers (Pentosemonoformal) $C_5H_8O_3<\substack{O \\ O}>CH_2$ zu, welcher Körper theoretisch 44 % Furfurol liefern soll. Das Reduktionsvermögen der, wie ein Versuch zeigte, vollständig hydrolisierten Substanz betrug 110 bis 130 (Dextrose = 100), während reine Xylose und Arabinose nach ihren eigenen Versuchen 105 bis 112 reduzieren sollen[1]). Die Ausbeute an Osazon betrug 30 bis 40 %[2]). Die Hauptmenge des Osazones zeigte Schmelzpunkt 146 bis 153° und erwies sich in jeder Hinsicht als von dem der typischen Pentosen nicht unterscheidbar. Cross und Bevan halten es für Xylosazon; die Bestätigung als Osazon einer Pentose brachten genaue Elementaranalysen. Die Lösung mußte daher Xylose

---

[1]) Es steht dies in Widerspruch mit den sorgfältigen Untersuchungen von Weiser (Landw. Versuchsst. 58, 219), wonach sich deren Reduktionsvermögen nicht wesentlich von dem der Dextrose unterscheidet.

[2]) Nach Maquenne (Compt. rend. 1891, 112, 799) gibt Xylose 40 %, Arabinose 27 % — nach Versuchen von Cross und Bevan (Journ. Chem. Soc. 69, 804) Xylose = 25 %, Arabinose = 16 %.

oder eine in naher Beziehung stehende Verbindung (closely related compound) enthalten.

Die Phloroglucinreaktion war tief violett und schied sich dabei in eine blauschwarze unlösliche Verbindung ab. Versuche, aus der mit $BaCO_3$ neutralisierten Lösung irgendwelche Krystalle zu erhalten, waren vergeblich; beim Verdunsten entstand lediglich ein schwach gefärbtes Gummi. Von Bariumverbindungen waren nur Spuren nachweisbar. Verbrennungen gaben Werte, die der Formel $C_6H_{10}O_5$ sehr nahe kommen. Mit Oxydationsmitteln, vorzüglich mit H_2O_2 entstand Formaldehyd und Kohlendioxyd in reichlicher Menge, während der Abbau bei Arabinose und Xylose schwach und engbegrenzt sein soll. Trotzdem schreiben die Autoren[1]): „dieses abweichende Verhalten bedeutet nicht notwendigerweise eine Konstitution oder Konfiguration, die von der der bekannten Pentosen verschieden ist".

Außerdem sollen die Furfuroide gegen Alkali beständiger als die Pentosen sein und durch Hefe rasch, aber nur teilweise vergoren werden. Ob wirklich Alkohol entstand, wurde freilich nicht untersucht. Dextrose konnte nicht in größeren Mengen vorhanden sein, da 1. durch Oxydation mittels HNO_3 kein Derivat der C_6-Reihe zu erhalten war, 2. kein hochschmelzendes Osazon und 3. wegen der hohen Furfurolzahlen. Aus anderen Gründen halten die Autoren jedoch selbst die Anwesenheit geringer Mengen von Dextrose für wahrscheinlich.

Aus all diesen Eigenschaften schließen sie, daß diese hydrolysierten Furfuroide Pentosemethylenäther (Pentosemonoformale) sind. Anders bei den Furfuroiden der jungen, lebenden Pflanze[2]). Diese gleichen, was Osazon, Gärung und H_2O_2-Reaktion betrifft, vielmehr den Hexosen. Nach der Blütezeit nähern sich die Eigenschaften progressiv dem der Pentosenmonoformale. Die Autoren stellen daher die genetische Reihe auf: Hexose, Pentose mit der wohldefinierten Zwischenstufe der Formalpentose.

Im nächsten Jahre[3]) glauben sie einen direkten Beweis für die Methylenätherformel zu erbringen, worauf später noch näher eingegangen werden soll. Sie untersuchen auch Esparto-

[1]) Journ. Chem. Soc. **69**, 815.

[2]) Chem. News **74**, 177 und 267.

[3]) Journ. Chem. Soc. **71**, 2, 1897.

und Strohcellulosen, und die daraus dargestellten Furfuroide zeigen wieder fast dieselben Eigenschaften der „Pentosenformale“, vor allem echte alkoholische Gärung.

Tollens[1]) wendet sich entschieden gegen diese Methylenätherformel, die sich in keiner Weise rechtfertigen läßt — auf den sogenannten direkten Beweis[2]) geht er jedoch gar nicht ein. Er untersucht das Verschwinden der Furfuroide (er selbst nennt sie meist noch Pentosen) bei der Gärung, findet jedoch nur wenig Alkohol, wohl aber saure Produkte, so daß diese Körper wenigstens nicht prinzipiell anders reagieren als echte Pentosen. Trotzdem schreibt er: „gegenwärtig besitzen wir keine genaue Kenntnis über die Natur dieser Substanzen“, und weiterhin: „es folgt, daß die Furfuroide andere Substanzen als Pentosen und Pentosane enthalten, aber keine Methylenderivate der obigen Konstitution“.

Cross und seine Mitarbeiter erwähnen seither die Methylenätherformel nicht wieder. 1900[3]) veröffentlichen sie Untersuchungen, wonach die Furfuroide durch Tiere vollständig verdaut werden[4]). Ihre Konstitution sei eine offene Frage; auf keinen Fall sollen sie als Pentosen oder Pentosane bezeichnet werden dürfen. Und in einer anderen Abhandlung[5]) ziehen sie die folgenden Schlüsse:

a) „daß die Gruppe von furfurolliefernden Bestandteilen der Pflanze außer Pentosanen noch Oxyhexosen (bzw. Anhydride) enthalten kann, die Zwischenstufen darstellen von einer komplexen Hexosan-Pentosanreihe. In Anbetracht dieser Wahrscheinlichkeit ziehen wir den Ausdruck Furfuroid als eine Gruppenbezeichnung vor,

b) und daß solche Oxyhexosen mit Hefe Gärung geben und von Tieren assimiliert werden können.“

Um die Resultate dieser Arbeiten nochmals kurz zusammenzufassen, so ist das wichtigste, daß es als direkte Produkte der Assimilation der Pflanzen Substanzen gibt, die wohl Furfurol

---

[1]) Journ. of the fed. Inst. of. Brewing **1898**, 438.

[2]) Journ. Chem. Soc, **71**, 2, 1897.

[3]) Journ. Soc. Chem. Ind. **10**, 307.

[4]) Neuere Veröffentlichungen widerlegen jedoch diesen vermeintlichen Unterschied, da auch echte Pentosen verdaut werden sollen.

[5]) Journ. Amer. Chem. Soc. **22**, 630, 1900.

in derselben Ausbeute wie Pentosen liefern, die dagegen an sich, sowie auch in hydrolisiertem Zustande deren Phloroglucinreaktion nicht zeigen. Die an deren Stelle entstehende Reaktion wird freilich sehr verschieden angegeben; rotviolett[1]), keine Reaktion[2]), brauner Niederschlag ohne Färbung der Lösung[3]), gelb, dann blau[4]), tiefviolett bis blau[5]) und endlich grün[6]), wie es auch bei so verschiedenartigen untersuchten Körpern nicht zu verwundern ist. Diese furfurolliefernde Substanz widersteht der Einwirkung verdünnter Säuren und Alkalien, was sie in Gegensatz zu den Pentosen stellen soll. Vermeintliche Unterschiede sind außerdem bei den Produkten ihrer Hydrolyse die Assimilierbarkeit und die angebliche Gärung, doch ist diese letztere Frage noch gänzlich unaufgeklärt[7]). Auf die Oxydation mit H_2O_2 scheinen Cross und Bevan selbst nicht viel Gewicht zu legen. Es bleibt deshalb nur noch das angeblich viel stärkere Reduktionsvermögen, wobei zu bemerken ist, daß nach Cross und Bevan auch reine Arabinose und Xylose stärker reduzieren.

Für die Identität der Furfuroide mit den Pentosen dagegen spricht deren Osazon, das unzweifelhaft ein Pentosazon ist. Alle anderen Verbindungen als Pentosen und höchstens noch ganz nahe verwandte Körper, die leicht die freie Pentose liefern, kommen daher von vornherein nicht mehr in Betracht. Es ist dies ein Punkt, der meines Erachtens viel zu wenig Beachtung gefunden hat.

Obwohl demgemäß die chemische Individualität der Furfuroide auf sehr schwacher Basis gegründet ist, so scheint doch merkwürdigerweise ihre Nichtidentität mit den Pentosen allgemein anerkannt zu sein.

In neuester Zeit beschäftigt sich noch Brauns[8]) mit diesen Furfuroiden. Leider war mir die Originalabhandlung nicht zugänglich und ich auf die Angabe des Chem. Zentralblattes

[1]) Zeitschr. f. angew. Chem. **1896**, 45.
[2]) Journ. Chem. Soc. **65**, 477, 1894.
[3]) Journ. Chem. Soc. **71**, 1001.
[4]) Journ. Inst. Bren. **1897**, 2.
[5]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **29**, 1457 und Journ. Chem. Soc. **69**, 804.
[6]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **35**, 1466.
[7]) Vgl. auch Tollens und Schoene, Journ. f. Landw. **49**, 29.
[8]) Pharmac. Weekblad **46**, 326.

(1, 1608, 1900) beschränkt. Brauns unterscheidet zwei Formen der furfurolliefernden Substanz: Pentosane und Furfuroide. Erstere werden schon beim einstündigen Kochen mit 2 °/₀ H_2SO_4 vollständig gelöst, so daß der gut ausgewaschene Rückstand die — nur schwer hydrolisierbaren — Furfuroide enthält. Letzterer Name ist hier demgemäß eine Spezialbezeichnung geworden. Auch v. Lippmann[1]) gebraucht den Namen Furfuroide (abgekürzt: Furoide) nicht als Sammelbegriff, sondern versteht darunter jene furfurolliefernde Substanz, die nicht Pentosan sein soll.

Hatten Cross und Bevan erstmals im Jahre 1896[2]) die Methylenätherformel (Pentoseformal) aufgestellt, so glauben sie im folgenden Jahre[3]) hierfür auch einen direkten Beweis erbringen zu können, indem sie durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff auf die Lösungen der Furfuroide Fällungen von charakteristischem Geruch erhalten, die sie als Trithioformaldehyd ansprechen.

„The most direct proof .... is the fact, that the action of hydrogen sulphide on the solutions ... give rise to characteristic thioformaldehydes.“

„The solution, obtained in this experiment gave a considerable precipitate with H_2S, which was much increased on adding HCl. The precipitate had the characteristic odour and properties of trithioformaldehyde ...... and the filtrate from this yielded as much furfuraldehyde as the original untreated solution.“

Den „charakteristischen Geruch und die Eigenschaften“ des vermeintlichen Trithioformaldehyds scheinen Cross und Bevan leider nicht genauer untersucht zu haben, denn abgesehen davon, daß reines Trithioformaldehyd geruchlos ist, liegt auch sein Schmelzpunkt um rund 100° höher als der des Produktes der obigen Versuche. Das, was nämlich unter diesen Bedingungen ausfällt, ist ein Polymerisationsprodukt des Thiofurfurols, $C_4H_3O.CH.OH.SH$ das sich durch einen wenig angenehmen Geruch auszeichnet. Dieser Geruch zeigt freilich eine gewisse Ähnlichkeit mit jenem anderen, der bei der Fällung

[1]) Chemie der Zuckerarten, III. Aufl.

[2]) l. c.

[3]) Journ. Chem. Soc. 50, 1001, 1897.

des Trithioformaldehyds auftritt, jedoch nur eine, m. W. nicht näher bekannte Verunreinigung darstellt. Trithioformaldehyd läßt sich leicht z. B. aus Benzol umkrystallisieren und ist dann geruchlos; Polythiofurfurol stellt eine amorphe, kautschukähnliche, äußerst zähe Masse dar, die in allen üblichen Lösungsmitteln fast unlöslich ist. Die Fällung des Furfurols mit H_2S verläuft quantitativ, und es ist daher auch nicht zu verstehen, wieso die beiden englischen Autoren im Filtrate noch dieselbe Menge Furfurol finden konnten.

Wenn dieser „direkte Beweis" auch auf einem Irrtum aufgebaut ist, so war doch der Gegenbeweis erst noch zu erbringen, um die Anwesenheit oder das Fehlen von Methylenäthern endgültig festzustellen.

Experimenteller Teil.

Versuche bezüglich der vermeintlichen Methylenätherstruktur der Furfuroide.

Ausgangsmaterial zu diesen und den folgenden Versuchen waren zerkleinerte Gerstenspelzen, die für andere Untersuchungen mit sehr verdünnter kalter Salzsäure, dann mit Alkohol und Äther extrahiert waren. Auf diese Weise waren sie frei von Fetten und öligen Substanzen, eine Eigenschaft, die für die späteren Untersuchungen nur von Vorteil war. Stärke war nur sehr wenig vorhanden; der Wassergehalt betrug 7,95 $^0/_0$.

Alle Methylenäther spalten mit Säuren mehr oder minder leicht freies Formaldehyd ab und zwar unter geeigneten Umständen quantitativ, so daß Tollens und seine Mitarbeiter darauf ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung dieser Gruppe speziell für die Kohlenhydrate ausgearbeitet haben[1]). Bei den folgenden Versuchen sollte ein schon gebildetes Formaldehyd nicht mittels Phloroglucin, sondern durch die empfindliche Riminische Reaktion[2]) nachgewiesen werden.

3 g der erwähnten Gerstenspelzen wurden mit 100 ccm Salzsäure spez. Gew. 1,06 ganz wie bei den üblichen Pentosanbestimmungen destilliert. Bei der Ausführung der Reaktion im Filtrate zeigte sich das reichlich

---

[1]) Annal. **298**, 318 und Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **32**, 2841.

[2]) Bei Zugabe von Nitroprussidnatrium, Phenylhydrazin und Natronlauge lassen sich minimale Spuren Formaldehyd durch Auftreten einer blauen Färbung nachweisen.

gebildete Furfurol sehr hinderlich; es mußte die Lösung etwas verdünnt und sehr rasch gearbeitet werden, damit eine etwa eintretende Blaufärbung erkannt werden konnte, ehe das sich nebenbei bildende Furfurolhydrazon die Lösung gänzlich undurchsichtig machte. Trotzdem war keinerlei Reaktion wahrnehmbar.

Da möglicherweise die Salzsäure im Destillat hindernd oder verzögernd hätte wirken können, so wurde der Versuch unter Anwendung von 25% H_2SO_4 an Stelle der Salzsäure wiederholt. Weder in den ersten, noch in den mittleren oder Schlußanteilen des neutralen Destillates war auch nur eine Spur von Formaldehyd nachzuweisen.

Gegen das Ergebnis dieser Versuche könnte eingewendet werden, daß der Methylenäther in irgendeiner komplexen Form, vielleicht an Cellulose gebunden, sehr widerstandsfähig sein könnte, obwohl man dies für sehr unwahrscheinlich halten muß. Es wurde daher nach dem Beispiel von Cross und Bevan die Aufschließung unter Druck versucht. Nach den Angaben der beiden Autoren[1]) sollen dabei die furfurolliefernden Substanzen größtenteils gelöst und vollständig hydrolysiert, teilweise auch bis zu Formaldehyd abgebaut werden:

„Under these conditions of hydrolysis and subsequent condensation, a series of products can be obtained, from the soluble carbohydrates to furfuraldehyde, on the one hand, accompanied on the other by formaldehyde and insoluble products resulting from their interaction."

20 g Spelzen wurden mit 125 ccm 1% H_2SO_4 20 Minuten unter einem Druck von 3 Atm. gekocht und das Filtrat untersucht. Die Lösung zeigte deutlichen Geruch nach Furfurol, gab aber wiederum keine Formaldehydreaktion.

Es wurden auch mehrere blinde Versuche angestellt und zu der so erhaltenen Lösung wechselnde Mengen Formalin zugegeben, um die Empfindlichkeit der Reaktion zu erproben. Durch die Gegenwart der verhältnismäßig großen Menge Furfurol wird diese wohl etwas beeinträchtigt, doch waren noch 0,002% Formaldehyd ($^1/_{50}$ mg im ccm) deutlich erkennbar.

Aus diesen Versuchen ist mit Sicherheit zu entnehmen, daß keinerlei Methylenäther irgendwelcher Art — auch nicht in kleinen Mengen — in den untersuchten Spelzen vorhanden ist.

Versuche über die Extraktion der Pentosane.

Nach Brauns[2]) sollen sich, wie schon oben erwähnt, die Pentosane von den Furfuroiden durch 1 stündiges Kochen mit

[1]) Journ. Chem. Soc. L. 1897, 1001.

[2]) Pharm. Weekblad 46, 326.

2 %iger Schwefelsäure trennen lassen. Es war zwar ziemlich unwahrscheinlich, daß eine nur 1 stündige Kochdauer zur vollkommenen Extraktion der Pentosane genügen würde[1]); dieser Versuch wurde aber trotzdem wiederholt, um wenigstens einen Anhaltspunkt über die Menge der vorhandenen „Pentosane“ und „Furfuroide“ im Sinne Brauns' zu gewinnen.

5 g Spelzen (4,6 Trockensubstanz) wurden mit 50 ccm 2 %iger Schwefelsäure 1 Stunde schwach gekocht, dann heiß abfiltriert. Das Filtrat war bräunlich gelb und trübte sich beim Erkalten, offenbar durch Ausscheidung irgendwelcher Eiweißkörper. Bei Zugabe von Natronlauge löste sich die Trübung wieder unter intensiver Braunfärbung, um beim Zusatz von Säure wieder in Flocken auszufallen. Eine Pentosanbestimmung zeigte, daß insgesamt 1,257 g Pentosan in Lösung gegangen waren, d. i. 25,14 % bezogen auf lufttrockne Substanz oder 27,33 % bezogen auf wasserfreie Substanz. Bei der Fällung mit Phloroglucin war nichts Auffälliges zu bemerken.

Der Rückstand wurde ebenfalls einer Pentosanbestimmung unterworfen und lieferte 0,2091 g Furfurol, woraus sich 0,3736 g „Pentosan“ berechnen würden, d. i. 7,47 % der lufttrocknen oder 8,12 % der Trockensubstanz.

Auffällig war, daß die letzten Proben des Destillates mit Phloroglucin wohl eine orange Färbung zeigten, jedoch keinen Niederschlag mehr gaben. Dieselbe Erscheinung zeigte sich ein andermal bei einem Versuch, in der zu technischen Filtrationen verwendeten reinen Cellulose ein geeignetes Rohmaterial für die Untersuchung der Furfuroide zu finden. Anilinacetat gab auch noch in den letzten Proben der Furfuroldestillation eine schwache rötliche Reaktion; mit Phloroglucin färbte sich die Lösung orange, wieder ohne Auftreten irgendeiner Fällung.

Die Ursache dieser auffälligen Erscheinung ist jedenfalls in den von Fraps[2]) so benannten Furaloiden zu suchen, das sind in ihrer Natur unbekannte Begleitkörper des Furfurols, die offenbar aus Hexosenanhydriden entstehen und die gewichtsanalytische Furfurolbestimmung beeinflussen. Eine Trennung des Furfurols von den Furaloiden durch nochmalige Destillation könnte jedoch bei der Zersetzlichkeit des Furfurols vielleicht nur noch größere Fehler verursachen.

Bezüglich der Ausführung dieser und aller späteren Pentosanbestimmungen sind noch einige Bemerkungen notwendig.

---

[1]) Vgl. Tollens Ber. **36**, 3306.

[2]) Am. Chem. Journ. **25**, 501.

In Anwendung kam ausschließlich die Methode von Tollens-Kröber[1]), d. h. die Fällung mit Phloroglucin. Unger[2]) hält zwar die Barbitursäure zu diesem Zweck für geeigneter, allein die Methode ist m. W. noch nicht für alle Zwecke nachgeprüft; einer allgemeinen Anwendung dürfte auch der derzeitige hohe Preis der Barbitursäure hindernd im Wege stehen. Außerdem scheint sich der Einfluß der Hexosen und Hexosane in gleicher, wenn nicht stärkerer Weise als bei der Phloroglucinmethode geltend zu machen, trotzdem reine Hexosane keine Fällung geben sollen.

Ein nicht zu vermeidender Nachteil der Tollensschen Methode ist die durch die Destillation des zersetzlichen Furfurols bedingte Ungenauigkeit. Wie schon früher teilweise bekannt und wie Unger durch genauere Zahlen belegt, wächst die Menge des zersetzten Furfurols sowohl mit der Konzentration der Säure, als mit der Dauer ihrer Einwirkung. Letztere aber ist nicht nur von der Geschwindigkeit der Destillation, d. h. der Größe der Flamme und von der Natur der angewandten Substanz abhängig, sondern auch von der Menge der vorhandenen Pentosane. Wenn in zwei Bestimmungen nebeneinander z. B. 50 und 100 ccm derselben Lösung der Destillation unterworfen wurden, so war das Ende der Furfurolreaktion das eine Mal bei 400 ccm, das andere Mal erst bei über 500 ccm Destillat zu erreichen. Die Kröberschen Werte aber sind bei einer Menge von 400 ccm 12 $^0/_0$ iger Salzsäure bestimmt: braucht man mehr Destillat, so wird auch mehr Phloroglucid in Lösung gehen. Um diese Fehler nach Möglichkeit zu vermeiden und vergleichbare Werte zu erhalten, wurden nie zu große Mengen pentosanhaltiger Lösungen verwendet, so daß bei 400 ccm Destillat das Ende der Reaktion schon erreicht war. Die Größe der Flamme war so reguliert, daß in 12 Minuten je 30 ccm überdestillierten. Diese Einstellung der Teclubrenner wurde von einem Versuch zum anderen nie geändert, damit die Geschwindigkeit der Destillation stets dieselbe bleibe.

Die gefundene Menge Phloroglucid wurde stets auf Pentosan umgerechnet, denn eine Angabe der Ausbeute an Furfurol, wie

[1]) Journ. f. Landw. 48, 357.

[2]) Inaug.-Diss. München 1904.

Unger[1]) vorschlägt und auch Cross und Bevan stets geben, schien mir wegen der Unsicherheit der Bestimmung der „Trockensubstanz“ der Lösungen nicht angezeigt.

Aus obigem Versuch ist jedoch noch nicht ohne weiteres zu erkennen, ob tatsächlich das Furfurol aus dem Rückstand einer anderen Substanz entstammt, als das Furfurol aus der Lösung. Auch war noch zu prüfen, ob auf die angegebene Weise wirklich eine genaue Trennung der vermutlich verschiedenen Substanzen zu erreichen sei. Es wurde daher eine Reihe von Versuchen angestellt, ob nicht durch fortgesetzte Extraktion mit verdünnten Säuren ein Punkt erreicht werden könnte, wo praktisch so gut wie keine Pentosane mehr in Lösung gehen, wo also eine etwa zurückbleibende furfurolgebende Substanz eine andere Konstitution besitzen müßte als die gewöhnlichen Pentosane, d. h. Furfuroid im Sinne Brauns' wäre.

5 g der lufttrocknen Spelzen (4,6 g Trockensubstanz) wurden mit 70 ccm 2%iger Salzsäure 1 Stunde lebhaft gekocht und durch ein gewogenes Filter heiß filtriert.

Der Rückstand wurde heiß bestens ausgewaschen und bei 100° zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Es sind unlöslich geblieben: 2,42 g,
daher in Lösung gegangen: 2,18 g.

Die reduzierende Substanz wurde als Dextrose bestimmt und berechnet, da ja nach Weiser[2]) das Reduktionsvermögen von Arabinose und Xylose sich nicht wesentlich von dem der Dextrose unterscheidet[3]). Es wurde gefunden, daß im gesamten Filtrate 1,336 g reduzierende Substanz vorhanden sind.

Eine Pentosanbestimmung aus 50 ccm der Lösung ergab 0,2871 g gemischtes Phlorogluoid (Methylphloroglucid wurde nicht gesondert bestimmt), entsprechend 1,2895 g „Pentosan“ in der Lösung.

Die geringe Differenz zwischen reduzierender Substanz 1,34 und Pentosan 1,29 deutet auf das Vorhandensein von nur sehr wenig Glucose, vorausgesetzt, daß die Pentosane größtenteils zu Monosacchariden abgebaut waren, was durch spätere Versuche bestätigt wurde.

In der gleichen Weise wie bei dieser ersten Extraktion wurde der Rückstand noch 3 mal mit je 70 ccm 2%iger H_2SO_4 1 Stunde gekocht, jedesmal der Rückstand wieder gewogen und in der Lösung eine Pen-

---

[1]) l. c.

[2]) Landwirtschaftl. Versuchsst. 58, 219.

[3]) Es steht dies freilich im Widerspruch mit den schon früher erwähnten Angaben von Cross und Bevan (Journ. Chem. Soc. 69, 804).

tosanbestimmung ausgeführt. Die Trockensubstanz in der Lösung wurde wegen der Ungenauigkeit der Methode nicht wieder direkt bestimmt. Das Ergebnis dieser Versuche ist in der nachfolgenden Tabelle vereinigt.

Angewandt 4,6 g Trockensubstanz.

Extraktion	In Lösung gegangen	Reduz. Subst. als Dextr. ber.	Pentosan	Berechnet als Arabinose.
1.	2,35	1,336	1,28	1,60
2.	0,166	0,105	0,108	0,134
3.	0,110	0,042	0,032	0,040
4.	0,086	0,032	0,027	0,032

Wenn man die Summe der bei den nacheinander folgenden Extraktionen erhaltenen Pentosanwerte (1,447 g) mit den Resultaten des Versuchs eingangs mitgeteilten (1,257 + 0,374 = 1,631 g) vergleicht, so bleibt die nicht unbedeutende Differenz von 0,184 g, — ein Zeichen, daß noch immer ein beträchtlicher Teil unaufgeschlossen blieb.

In der 1. und in der 2. Stunde geht die Hauptmenge aller furfurolliefernden Substanz in Lösung, es sind die leicht hydrolysierbaren Pentosane. Diese Benennung erscheint um so sicherer, da sie keine Spur eines höheren Reduktionsvermögens zeigt, wie es nach Cross und Bevan für die hydrolysierten Furfuroide charakteristisch sein soll. Eine genauere Untersuchung erlaubte späterhin die Benennung als Arabinose bzw. Metaraban. Es steht dies in Übereinstimmung mit Untersuchungen von Steiger und Schulze[1]), die nach Extraktion mit 3%iger H_2SO_4 aus Weizen und Roggenkleie Arabinose darstellen konnten.

In der 3. und 4. Stunde ist die Hydrolyse sehr gering und auffälligerweise fast konstant, so daß es recht zweifelhaft erscheint, ob man die jetzt in Lösung gegangene Substanz als identisch mit jener ersteren betrachten soll. Der nicht unbeträchtliche Rest endlich, der sich einer Hydrolyse noch immer entzogen hat, muß offensichtlich in anderer Form oder anderer Bindung als die leichter hydrolysierbaren Pentosane vorliegen, es sind unzweifelhaft die Furfuroide im Sinne Brauns'. Durch obige Versuche ist demgemäß nachgewiesen, daß eine annähernde Trennung in leicht und schwer hydrolysierbare furfurolliefernde Substanz sehr wohl möglich ist, entsprechend der verschiedenen

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 23, 3110 und 24, 2278.

Beständigkeit gegen verdünnte Säuren. Sehr leicht angreifbar: Pentosane; schwer, aber doch nicht ganz unangreifbar: (vgl. 3. und 4. Stunde) die Braunsschen Furfuroide.

Durch diese Trennung ergab sich erst die Möglichkeit, zwei offensichtlich verschiedene Muttersubstanzen in den Produkten ihrer Hydrolyse genauer und einwandfrei zu untersuchen. Cross und Bevan hatten dagegen — abgesehen von jenen wenigen Fällen, wo sie angeblich eine pentosanfreie Rohfaser verwendeten — stets ein Gemisch in Händen, dessen Zusammensetzung sie nie untersuchten, da sie offenbar von der Einheitlichkeit der in der Lösung vorhandenen Körper überzeugt waren. Diese Körper, oder besser gesagt, dieses Gemisch belegten sie mit dem Namen Furfuroide. Da aber unzweifelhaft aus den Biertrebern[1]) ein großer Teil der echten Pentosane in Lösung gegangen sein mußte, so konnte unter Umständen deren Untersuchung von den Eigenschaften der vermuteten, nicht pentoseanhydridartigen, furfurolliefernden Substanz (Furfuroide im Sinne Brauns') ein ganz falsches Bild liefern.

Hauptversuche.

Um größere Mengen für die Untersuchung vor allem der Rückstände zu gewinnen, wurden die Extraktionen mit 2%iger H_2SO_4 in ähnlicher Weise in größerem Maßstabe wiederholt.

Erste Extraktion. 100 g Spelzen wurden in 2 Teile getrennt, mit 1400 ccm 2%iger H_2SO_4 2 Stunden gekocht und das Filtrat auf 3000 ccm verdünnt.

10 ccm obiger Lösung ergaben als Mittelwert zweier Versuche 0,1003 g gemischtes Phloroglucid. Umgerechnet auf 5 g angewandte Substanz gibt das 1,406 g Pentosan, die mit der Summe der ersten und zweiten Extraktion der Vorversuche (1,29 + 0,108 = 1,398) sehr gut übereinstimmen. Für die genaue Untersuchung war es aber auch notwendig, die Werte der Methyl- und der reinen Pentosen zu kennen; es wurde daher nach der Methode von Tollens[2]) das Phloroglucid der Methylpentosen mit Alkohol gelöst.

Methylphloroglucid . .	0,0053 g,
Reines Phloroglucid . .	0,0950 g.

Dies entspricht in den 3000 ccm der Lösung (= 100 g Spelzen):

---

[1]) Journ. Chem. Soc. **69**, 804.

[2]) Journ. f. Landw. **58**, 13; Zeitschr. f. anal. Chem. **48**, 165.

Rein Pentosan . . . . 26,78 g,
Rein Pentose . . . . . 30,36 g,
Arabinose . . . . . . 33,18 g,
Methylpentose . . . . 4,95 g.

Die Methylpentose wurde dabei nach Willy Mayer[1]) als Mittel der Werte für Fucose und Rhamnose gerechnet.

Da vorauszusehen war, daß die in der Lösung vorhandenen Kohlenhydrate schwerlich alle bis zu den Monosacchariden abgebaut sein können, so wurde auch das Reduktionsvermögen in der direkten Lösung und nach Kochen mit 3,67%iger Schwefelsäure während verschiedener Zeiten bestimmt. Die eingetretene vollständige Hydrolyse mußte sich durch ein Maximum der Reduktionskraft kundtun. Freilich konnte die Aufgabe durch die Anwesenheit verschiedener Zucker wesentlich kompliziert werden.

Mit 3,67%iger H_2SO_4 erhitzt	Reduzierende Substanz, ber. als Dextrose	
	in 100 ccm	in 3000 ccm
Stunden	g	g
0	1,213	36,39
2	1,272	38,16
3	1,277	38,31
4	1,284	38,52
5	1,277	38,31

Bei diesen mit besonderer Sorgfalt ausgeführten Versuchen ergibt sich aus der geringen Differenz der Werte nach 3, 4 und 5 Stunden, daß wahrscheinlich diese Unterschiede durch einen Zucker verursacht sind, der in seiner Menge gegenüber den anderen sehr zurücktritt, möglicherweise also durch Dextrose. Man kann sich vorstellen, daß die Pentosane in einem teilweise hydrolysierten Zustande in Lösung gingen, die Hydrolyse aber erst nach 3 oder 4 Stunden vollständig erfolgt war[2]). Es wären diese bis jetzt noch gänzlich unerforschten Zwischenprodukte am ehesten mit der Stellung der Dextrine zwischen Dextrose und Stärke zu vergleichen.

Osazon: 200 ccm der Lösung wurden mit $BaCO_3$ neutralisiert mit 7 ccm Phenylhydrazin, 15 ccm Essigsäure und etwas Natriumacetat zwei Stunden lang gekocht. Die Lösung war trüb und hatte eine reichliche

[1]) Inaug.-Diss. Göttingen 1906.

[2]) Vgl. hierzu die Erfahrungen über unvollständige Hydrolyse, die Cross und Bevan bei der Aufschließung mit starker H_2SO_4 machten. J. Ch. Soc. **69**, 807.

Menge Osazon in öliger Form abgeschieden. Beim Erkalten schied sich wieder hellgelbes Osazon in ganz charakteristischer gallertartiger Form aus. Nach viermaligem Umkrystallisieren aus heißem Wasser, sinterte es bei 155 bis 156° und schmolz bei 158° (rasch erhitzt). Das ölig abgeschiedene Osazon in gleicher Weise umkrystallisiert, sinterte bei 154 bis 155°, schmolz bei 156 bis 158° und zeigte auch sonst dieselben Eigenschaften der Löslichkeit und des Ausfallens in gelatinösen Flocken schon bei geringer Temperaturerniedrigung. Die Farbe war stets ein sehr helles Chromgelb, fast Zitrongelb. Versuche, durch mehr oder minder große Löslichkeit verschiedene Fraktionen zu erzielen, waren vergeblich; das Osazon zeigte stets denselben Schmelzpunkt, scheint also vollkommen einheitlich zu sein.

Wurde schon aus den Eigenschaften vermutet, daß es Arabinosazon sei, so wird es zur Gewißheit durch das optische Verhalten. 0,05 g Osazon in 10 ccm Pyridin-Alkohol gelöst (eine konzentriertere Lösung konnte nicht verwendet werden), zeigte in einem Laurentschen Polarisationsapparat im 1 dcm-Rohr eine Rechtsdrehung von 19 Minuten (Arabinose theoretisch 17,5′, Xylose linksdrehend). Diese kleine Differenz liegt sicher innerhalb der Ablesungsfehlergrenze des Apparates. Das Auftreten von Dextrosazon bei der Darstellung des Osazons konnte nicht sicher beobachtet werden. Bestätigt wird dadurch die schon früher geäußerte Vermutung, daß die Menge der Dextrose im Verhältnis zur Pentose (Arabinose) sehr klein ist.

Vergärungsversuche: Je 100 ccm der Lösung wurden mit $BaCO_3$ neutralisiert und das eine Mal ohne Zusatz, das andere Mal unter Zusatz von 35 ccm Hayduckscher Nährlösung mit je 3 g guter, frisch gewaschener Hefe versetzt, dann 15^h bei 25° stehen gelassen, filtriert und in aliquoten Teilen Pentosanbestimmungen ausgeführt. Je ein gleiches Volumen der verschiedenen Lösungen ergab die nachfolgenden Mengen Phloroglucidniederschlag:

Die unvergorene Lösung	0,1003 g
Vergoren ohne Nährlösung . . .	0,1006 „
Vergoren mit Nährlösung	0,0990 „

Der letztere Wert braucht jedoch keine wirkliche Abnahme zu bedeuten, sondern er dürfte eher seine Erklärung in der weiten Fehlergrenze der üblichen Pentosanbestimmungen durch Destillation finden. Zum mindesten zeigt der erste Versuch, daß die in der Lösung vorhandenen Pentosen bei kurzer Dauer der Gärung unangegriffen bleiben.

Zweite Extraktion.

Der von der ersten Behandlung verbliebene Rückstand wurde abermals mit 1400 ccm 2% H_2SO_4 2^h gekocht, das Filtrat wieder auf 3000 ccm verdünnt.

50 ccm der Lösung gaben im Mittel zweier Versuche 0,0180 g gemischtes Phloroglucid, davon 0,0050 g Methylphloroglucid. Ersterer Wert entspricht 0,057 g Pentosan, eine Zahl, die wieder gut mit der 3. und 4. Extraktion der Vorversuche $(0,032 + 0,027 = 0,059)$ übereinstimmt. Genauer, d. i. als reines Pentosan und Methylpentose berechnet, ergeben sich die folgenden Werte, die wegen der kleinen Menge der Niederschläge leider eine hohe Fehlergrenze in sich schließen. Insbesondere sind die berechneten Werte für Methylpentose sicher viel zu hoch, wie gegen Schluß der vorliegenden Arbeit näher ausgeführt werden soll.

In den 3000 ccm der Lösung sind enthalten:

Reines Pentosan	0,792
Reine Pentose	0,876
Arabinose	0,978
Methylpentose	0,954
Reduzierende Substanz berechnet als Dextrose	1,476

Untersuchung der von leichthydrolisierbaren Pentosanen befreiten Spelzen.

Der Rückstand obiger zwei Extraktionen wurde erst an der Luft, dann im Exsiccator über Schwefelsäure getrocknet und mochte noch etwa 5 bis 10% Wasser enthalten.

„Pentosan“bestimmung:

1 g dieser Spelzen wurde auf die gewöhnliche Weise untersucht und gab 0,0866 g gemischtes Phloroglucid,

davon 0,0112 g Methyl- und
0,0754 g reines Phloroglucid,
entsprechend 0,0258 Methyl- und
0,0717 reines Pentosan.

Um diese Pentosane (Furfuroide) näher untersuchen zu können und sie von den Hexosanen zu trennen, wurde nach dem Beispiele von Cross und Bevan[1]) die Aufschließung mit 1% Schwefelsäure unter Druck gewählt. 10 g der Spelzen wurden daher mit 120 ccm 1% H_2SO_4 20 Minuten bei einer Temperatur von 130 bis 135° (2 Atm.) gekocht, heiß abfiltriert und auf 300 ccm aufgefüllt. Die Lösung zeigte deutlichen Geruch nach Furfurol. 30 ccm — entsprechend dem Extrakt aus 1 g — zur Pentosanbestimmung verwendet

gaben 0,0076 Methyl-
und 0,0368 reines Phloroglucid,
entsprechend 0,0426 g reiner Pentose
und 0,0213 g Methylpentose.

---

[1]) l. c.

Auf Reduktionswert untersucht, enthielt der Extrakt aus 1 g 0,0596 g reduzierende Substanz, ein Wert, der mit der Summe aus reiner und Methylpentose (0,0639) noch genügend übereinstimmt, insbesondere unter Berücksichtigung der sicher zu hohen Methylpentosezahl.

Um die Gärfähigkeit zu prüfen, wurde ein Teil der Lösung mit $BaCO_3$ neutralisiert, am Wasserbad auf etwa die Hälfte des Volumens konzentriert und mit 1 g Hefe 15 Stunden bei 25° gehalten, endlich filtriert und ein Teil (entsprechend genau 1 g Spelzen) zur Pentosanbestimmung verwendet.

Erhalten . 0,039 g gemischtes Phlorogluoid
statt . . . 0,044 g in der unvergorenen Lösung.

Der Saft wurde noch eine Woche bei gewöhnlicher Temperatur aufgehoben. Es zeigte sich dabei keine Spur einer Kohlensäureentwicklung, doch gab er nach dieser Zeit nur mehr 0,031 g gemischtes Phloroglucid.

Soweit die geringen Mengen der angewandten Substanz ein Urteil erlauben, scheinen diese Versuche darauf hinzudeuten, daß die vorhandene furfurolliefernde Substanz einer echten alkoholischen Gärung nicht fähig ist, jedoch von der Hefe assimiliert wird.

Diese Aufschließung unter Druck wurde noch einmal unter analogen Bedingungen, doch bei einem Überdruck von 3 Atm. wiederholt. Wiederum zeigte die Lösung deutlichen Furfurolgeruch. Gemäß den Untersuchungen enthält der Extrakt aus je 1 g der Rückstände:

0,0486 g Pentose neben
0,0127 g Methylpentose
und 0,0598 g reduzierende Substanz,

berechnet als Dextrose. Dies wäre wieder eine genügende Übereinstimmung, vorausgesetzt natürlich, daß die Hydrolyse vollkommen war. Um dies näher zu untersuchen, wurden Saftproben mit 2% Schwefelsäure im Wasserbad gekocht und das Reduktionsvermögen (berechnet als Dextrose) bestimmt:

0^h	0,1465 g	reduz.	Substanz	in	100	ccm
1^h	0,147 „	„	„	„	„	„
2^h	0,146 „	„	„	„	„	„
3^h	0,147 „	„	„	„	„	„

Die in der Lösung vorhandenen „Furfuroide“ sind also unzweifelhaft schon vollständig zu Monosen abgebaut. Auffällig ist, daß keine Andeutung einer Reversion zu ersehen ist; Dextrose würde sicher eine wesentliche Abnahme der Reduktionskraft gezeigt haben. Da dies möglicherweise eine besondere Eigenschaft der Pentosen sein könnte, so wurde ein Kontrollversuch mit reiner Arabinose angestellt.

Ohne Kochen gaben 25 ccm einer annähernd 0,3%igen Lösung im Mittel 0,0803 g gewogenes CuO. Dieselbe Menge, vorher jedoch 6 Stunden

mit 2 % H_2SO_4 gekocht, gab genau denselben Wert: 0,0803 g CuO. Sogar 6 stündiges Erhitzen vermochte in dieser verdünnten Arabinoselösung keine Abnahme der Reduktionskraft zu erzeugen, demgemäß wahrscheinlich auch keine Reversion.

Selbstverständlich ist damit noch nicht die Unmöglichkeit auch für höhere Konzentration und stärkere Säure bewiesen, zum mindesten aber bei niedrigen Konzentrationen offenbart sich hier ein bedeutender, vielleicht wesentlicher Unterschied gegenüber den Hexosen, speziell der Dextrose[1]).

Vergleichende Versuche über Lösungen bei verschiedenem Druck.

Inzwischen war auf dieselbe Weise, wie oben beschrieben, eine neue Menge der von den leichthydrolisierbaren Pentosanen befreiten Spelzen hergestellt worden, und diese sollten bei verschiedenem Drucke aufgeschlossen werden.

Es wurden jedesmal 7 g der Spelzen (6,288 g Trockensubstanz) mit 70 ccm 1 % H_2SO_4 bei einem Druck von 1, 2, 3 und 4 Atm. erhitzt — stets unter Kontrolle des Thermometers — 20 Minuten bei der erreichten Temperatur gehalten, dann abkühlen gelassen und durch ein gewogenes Filter filtriert. Der Rückstand wurde stets zur Konstanz getrocknet und ergab deshalb die Differenz von der angewandten Trockensubstanz die Menge der aufgeschlossenen Körper. Die direkte Bestimmung der Trockensubstanz litt wiederum unter der Ungenauigkeit, verursacht durch Zersetzungen beim Trocknen am Wasserbad. Auf die nicht unbeträchtlichen Mengen von löslichen Bariumsalzen organischer Säuren konnte aus den hohen Aschenwerten der mit $BaCO_3$ neutralisierten Säfte geschlossen werden. Durch Abzug der tatsächlichen Aschenwerte (der nicht neutralisierten Säfte) konnte das Bariumcarbonat, das aus den löslichen Salzen stammt, leicht bestimmt werden. Dieses wurde auf BaO umgerechnet und die erhaltene Zahl vom direkt gewogenen Wert der Trockensubstanz abgezogen. Es war dann noch der Wert des dem BaO entsprechenden H_2O hinzuzuzählen, um den direkten Wert der (bariumfreien) Trockensubstanz zu erhalten. Diese Zahlen stimmen mit den indirekt erhaltenen Werten der aufgeschlossenen Substanz nicht genau überein, da einerseits die schon mehrfach erwähnte Zersetzung beim Eindampfen als beträchtliche Fehlerquelle zu berücksichtigen ist und ebenso flüchtige Körper

---

[1]) Bei einem anderen Versuch, da eine 10 %ige Lösung ziemlich unreiner Arabinose mit 7,5 % Schwefelsäure 6 Stunden gekocht wurde, zeigte sich wohl eine Abnahme der Reduktionskraft entsprechend 0,1203 g CuO statt 0,1282 g. Da aber gleichzeitig eine intensive Braunfärbung des Saftes erfolgte, also eine Zersetzung, so entbehrt dieser Versuch jeglicher Beweiskraft für oder gegen die Annahme einer Reversion.

wie Furfurol entstanden sind, andererseits aber auch die Aufschließung unter Wasseraufnahme erfolgt sein muß.

Zwecks Bestimmung der Reduktionskraft wurden die Säfte, um in allen 4 Fällen ja sicher vollkommen invertierten Zucker zu haben, noch $4^1/_2$ Stunden mit $2^0/_0$iger Schwefelsäure gekocht. Nach dem Resultat der früheren Versuche war dadurch eine Abnahme der Reduktionskraft nicht zu befürchten. Endlich wurde auch noch der Wert der Pentosen und Methylpentosen sowie das Verhältnis des Zuckers (reduzierende Substanz) zur Menge der berechneten Trockensubstanz bestimmt. Die Resultate wurden in der nachfolgenden Tabelle vereinigt:

	1 at. g	2 at. g	3 at. g	4 at. g
Angewandt (Trockensubsanz)	6,288	6,288	6,288	6,288
Rückstand	6,131	5,828	5,538	5,420
Demgemäß aufgeschlossen	0,157	0,460	0,750	0,868
Lösung: Trockensubstanz (direkt)	0,158	0,502	0,839	0,910
Daraus Asche	0,072	0,151	0,200	0,130
Wirklicher Aschenwert	0,021	0,029	0,042	0,040
Demgemäß in der Asche aus der Trockensubstanz bestimmtes $BaCO_3$	0,051	0,122	0,158	0,090
Umgerechnet auf BaO	0,040	0,095	0,123	0,070
Trockensubstanz, korrigierte Zahl	0,121	0,419	0,731	0,848
Pentosan	0,0605	0,244	0,348	0,375
Methylpentosan (berechnet)	0,0655	0,0655	0,0845	0,1015
Pentose	0,0685	0,277	0,395	0,426
Arabinose	0,0755	0,3025	0,4315	0,4655
Methylpentose (berechnet)	0,0785	0,0785	0,100	0,1205
Summe Arabinose + Methylpentose	0,1540	0,3810	0,5315	0,5860
Reduzierende Substanz	0,1155	0,3525	0,551	0,614
Dieselbe bezogen auf aufgeschlossene Substanz	% 73,57	% 76,63	% 73,45	% 70,75

Auffallend hoch ist der Gehalt der Säfte an löslichen Bariumsalzen, wie aus den Werten für $BaCO_3$ in der Asche zu ersehen ist. Ob der niedrige Wert in der vierten Reihe (4 Atm.) rein zufällig oder durch irgendeine Einwirkung der höheren Temperatur auf die freien Säuren zu erklären ist, dies zu entscheiden ist mir mangels weiterer Versuche unmöglich. Ebenso muß die Frage offen bleiben über die Entstehung dieser Säuren; über ihre Zusammensetzung haben ja die Untersuchungen von Cross und Bevan[1]) schon einiges Licht verbreitet.

Die Methylpentosen (bzw. -pentosane) wurden wie früher als Mittel der Werte für Rhamnose und Fucose (bzw. deren

[1]) Journ. Inst. Brew. 1897, 2.

Anhydride) berechnet. Leider sind aber die Formeln, die zu deren Berechnung dienen, für so kleine Mengen, wie sie bei diesen Untersuchungen in Betracht kamen, ganz ungenau und die erhaltenen Werte infolgedessen jedenfalls viel zu hoch. Noch fehlen ja Methoden zur Bestimmung so geringer Mengen gänzlich, außerdem fehlt jeder Anhaltspunkt dafür, in welchem Verhältnis Fucose, Rhamnose oder vielleicht gar noch andere Methylpentosen in den Spelzen zueinander stehen. Je geringer die Mengen des Methylphloroglucids sind, um so unwahrscheinlicher werden die berechneten Zahlen, so daß in obenstehender Tabelle in den beiden ersten Reihen die entsprechenden Zahlen sicher um ein mehrfaches zu hoch sind. Bei allen Untersuchungen der von den leicht hydrolisierbaren Pentosanen befreiten Spelzen war das Verhältnis der Pentosen zu den Methylpentosen, als Phloroglucid gewogen, annähernd konstant 10:1, nach den entsprechenden Formeln umgerechnet, erscheint die Menge der Methylpentosen teilweise sogar größer als die der Pentosen! Bei größeren Mengen von Niederschlägen mag diese Methode ausreichen, obwohl auch hier selten zwei Werte gut übereinstimmen; bei kleineren Mengen versagt sie auch schon dadurch, daß stets ganz geringe Mengen des reinen Phloroglucids oder von dessen Oxydationsprodukten im Alkohol löslich zu sein scheinen. Ganz geringe Fehler hier aber erhöhen den Wert für Methylpentosen sprunghaft. Ganz von der Bestimmung der Methylpentosen abzusehen war aber auch nicht angängig, weil sonst für „Pentosan“ und „Pentose“ zu niedrige Werte erhalten werden, da ja Fucose und Rhamnose nur etwa die Hälfte an Methylfurfurol liefern, als jene an Furfurol.

Die anderen Werte der Tabelle sind alle in einwandfreier Weise bestimmt und lassen eine Reihe von Eigentümlichkeiten erkennen. Mit steigendem Druck wird die Menge der gelösten Substanz größer, wachsen auch die direkt bestimmten Werte für Trockensubstanz, Pentosan und reduzierende Substanz und zwar annähernd im selben Verhältnis.

Was das Reduktionsvermögen betrifft, so muß man von der ersten und zweiten Kolonne ganz absehen wegen der schon erwähnten zu hohen Zahlen für Methylpentosen. Weiter ist auch zu berücksichtigen, daß das Reduktionsvermögen dieser Methylpentosen nur unvollständig bekannt ist. Die Übereinstimmung

der Werte für „reduzierende Substanz“ und der Summe von Arabinose + Methylpentose kann daher nur eine unvollkommene sein. Auf jeden Fall aber ist von einem besonders hohen Reduktionsvermögen dieser Körper nichts zu erkennen, denn der höchste Wert des Verhältnisses von reduzierender Substanz zur Summe dieser Arabinose + Methylpentose ist wie 104,8 : 100. Cross und Bevan[1]) berechnen dagegen das Reduktionsvermögen im Verhältnis zur gesamten (!) Trockensubstanz und finden Werte bis 148 (durchschnittlich 120 bis 130).

Vergärungsversuch. Die verschiedenen „furfuroid“haltigen Säfte wurden, da sie sich in ihrer Zusammensetzung nicht wesentlich unterschieden, vereinigt und auf einen Gehalt von ungefähr 2 % reduzierender Substanz konzentriert. 100 ccm dieser Lösung wurden mit 3 g mehrmals bestens gewaschener frischer Hefe zur Gärung angesetzt und etwa 18^h bei 25° gehalten, schließlich filtriert und auf 500 ccm verdünnt. Irgendeine Kohlensäureentwicklung war nicht zu bemerken, und der nach dem Versuch gefundene Alkohol betrug nur 0,022 Gew.-Proz., einer so kleinen Menge vergorenen Zuckers entsprechend, die möglicherweise auch mit der Hefe eingebracht worden sein konnte. Eine Pentosanbestimmung mit 50 ccm des verdünnten Saftes ergab: 0,0850 und 0,0818 g, im Mittel 0,0834 g gemischtes Phloroglucid.

Die Kontrolle mit der unvergorenen Lösung ergab aus der gleichen Menge 0,0858 und 0,0832 g, im Mittel 0,0845 g.

Es scheint also tatsächlich nichts oder nur minimal wenig vergoren worden zu sein. Der geringen Alkoholmenge entsprechend können daher auch keine oder nur ganz geringe Mengen von Hexosen in der Lösung vorhanden gewesen sein.

Farbenreaktion. Die bekannte Farbenreaktion auf Pentosen mit Phloroglucin in salzsaurer Lösung erfolgte mit den auf 2 % konzentrierten Säften in genau der gleichen Weise, wie bei einer zur Kontrolle bereiteten 2 %igen Arabinoselösung.

Osazon. Der Rest der konzentrierten Säfte wurde endlich zur Darstellung des Phenylosazons verwendet, in derselben Weise, wie dies schon früher beschrieben wurde. Wieder hatte sich eine reichliche Menge in der Hitze ausgeschieden, während der Rest beim Erkalten ausfiel. Der erstere Teil bestand aus einer durch Verunreinigungen dicht verfilzten Masse von nadelförmigen Krystallen von 0,5 bis 1 mm Länge. Im heißem Wasser löslich, fiel das Osazon in derselben Weise wieder aus, wie auch der Rest aus dem Filtrate, in genau denselben gallertartigen Flocken wie früher das Arabinosazon. Im ganzen Verhalten der Löslichkeit, des Ausfallens und der Farbe zeigte sich auch dieses Osazon als

[1]) Journ. Chem Soc. 71, 1001.

identisch mit jenem ersteren aus den leicht hydrolisierbaren Pentosanen. Sintern trat bei 153 bis 155 ° ein, Schmelzen bei 156 bis 158 °.

Ein zur Kontrolle hergestelltes Osazon aus reinster Arabinose zeigte genau dieselben Eigenschaften, dieselbe Temperatur des Sinterns bei 154 °, denselben Schmelzpunkt von 156 bis 159 °.

Es unterliegt demnach keinem Zweifel mehr, daß das erhaltene Osazon Arabinosazon ist, demgemäß die schwer und die leicht hydrolisierbare „furfurolliefernde Substanz“, die Pentosane und Furfuroide im Sinne Brauns' bei der Hydrolyse dieselbe Monose liefern, nämlich Arabinose.

Jene in Nadeln krystallisierte Menge Osazon ließ, trotzdem sie mit einer harzigen Masse stark verunreinigt war, doch sehr deutlich den Schmelzpunkt von 159 ° erkennen, da diese Verunreinigung zufällig höheren Schmelzpunkt zu besitzen schien. Diese Krystallmasse ließ sich nach dem Lösen in heißem Wasser nicht wieder in derselben Form gewinnen, sondern gab regelmäßig nur die gelatinöse Form, die unter dem Mikroskop auch bei 1000facher Vergrößerung noch keinerlei krystalline Eigenschaften zeigte. Die Bedingungen, unter denen diese wohlkrystallisierende Form des Arabinosazons entsteht, sind mir unbekannt, und abgesehen von winzigen Krystallnadeln, die sich einmal auf einem Objektträger aus einer mit Natriumacetat versetzten Lösung jener ersten Krystalle zurückbildete, habe ich sie auch kein zweites Mal mehr gesehen. Versuche, aus diesen Osazonen höher oder tiefer schmelzende Anteile durch Fraktionierung zu isolieren, hatten wiederum keinen Erfolg.

Von all den Merkmalen, die die Furfuroide nach Cross und Bevan von den Pentosen unterscheiden sollen, nämlich:

1. spezifische Farbenreaktionen, besonders mit Phloroglucin,
2. hohe Reduktionswerte,
3. wirkliche alkoholische Gärung,
4. Beständigkeit gegen Natronlauge bei hoher Temperatur

— wurden mit Ausnahme des letzten Punktes, der nicht nachgeprüft wurde, alle als nicht bestehend nachgewiesen. War demgemäß schon keine Ursache mehr gegeben, die hydrolisierten Furfuroide für verschieden von den Pentosen zu halten, so wurde jeder Zweifel durch die Darstellung des Osazons beseitigt, wodurch es ermöglicht wurde, die einwandfreie Diagnose: Arabinose, zu stellen. Die Muttersubstanz dieses Körpers muß daher ein Pentosan enthalten.

Der Name Pentosan ist und soll dabei nur ein Sammelbegriff sein, unter dem vielleicht die allerverschiedensten Dinge zusammengefaßt werden, geradeso, wie in dem Namen Hexosan Stärke und Zellulose inbegriffen sind.

Auf diese nicht einheitliche Natur hat auch schon Unger[1]) hingewiesen, wenn er Seite 35 erwähnt, „daß die Anhydride der Pentosane in den verschiedenen Pflanzen bedeutende Verschiedenheiten aufweisen".

Durch vorstehende Arbeit wurde aber gezeigt, daß auch die Pentosane derselben Pflanze nicht einheitlich sind, daß durch ihr Verhalten gegen verdünnte Säuren zwei offenbar verschiedene Formen nachzuweisen sind. Welches aber ihr wesentlicher Unterschied ist, wissen wir nicht. Wir können uns vorstellen, daß es zwei gänzlich verschiedene Körper sind, wie etwa Stärke und Cellulose. Ebensogut, wenn nicht besser (vgl. die Theorien de Chalmots und von Cross und Bevan) könnte aber die schwierige Angreifbarkeit der einen Form durch eine chemische Verbindung eines Pentosans etwa mit der Cellulose erklärt werden; die leicht hydrolisierbare Form könnte dann derselbe Pentosankomplex sein, bei dem die Bindung mit dem Celluloserest schon gelockert oder auch vollkommen getrennt ist.

Leider sind wir über die Zusammensetzung der natürlich vorkommenden leicht hydrolisierbaren Pentosane noch ganz im unklaren. Wir wissen nicht, ob sie frei vorkommen, oder etwa stets nur Bestandteile komplexer Verbindungen mit Hexosanen sind. Nur die künstlich isolierten Pentosane sind etwas besser bekannt. Auf diesen Punkt haben schon Cross und Bevan in ihrer letzten Veröffentlichung[2]) hingewiesen: „Es muß bemerkt werden, daß wir keinerlei besondere Form der Pentosane haben, die mit der Stärke zu vergleichen wäre und daß die als solche beschriebenen Substanzen Produkte sind, die durch chemische Prozesse im Laboratorium isoliert wurden, und die der gut gekennzeichneten Individualität und Eigenschaften der Hexosenanhydride entbehren." Diese Laboratoriumspentosane können ganz gut schon Abbauprodukte der komplizierter (vielleicht in komplexer Form mit Hexosanen) zusammengesetzten natürlichen Pentosane sein, denn, daß es derartige Abbauprodukte gibt, die Zwischenstellungen zwischen Pentosan und Pentose einnehmen, ähnlich wie Dextrine zwischen Stärke und Dextrose, wird durch die zunehmende Reduktionskraft wahrscheinlich gemacht. Bedauerlicherweise fehlen bis jetzt mecha-

[1]) Inaug.-Dissert., München 1904.

[2]) Journ. Am. Chem. Soc. 22, 630, 1900.

nische Methoden zur Pentosanreindarstellung, wie sie bei der Stärke ausführbar sind und ausschließlich in Anwendung kommen müssen, noch gänzlich, und es dürfte daher sehr erschwert sein, eine vollständige Klarstellung dieser Verhältnisse herbeizuführen, wie sie als Grundbedingung zu einer rationellen Einteilung und Benennung notwendig ist. Bis dies aber einmal erreicht sein wird, müssen wir uns mit dem Sammelbegriff „Pentosan“ begnügen.

Außer Pentosanen liefern aber auch noch Glucuronsäure, Osone, künstliche und — wie Cross und Bevan meinen — auch natürliche Oxydationsprodukte der Hexosen und ihrer Anhydride bei der Destillation Furfurol, und ist es daher ihre Ansicht[1]), „daß der Ausdruck furfurolgebende Substanz oder kürzer Furfuroid als allgemeine Bezeichnung vorgezogen, während der Ausdruck Pentosan für seinen exakten Sinn, d. i. als Pentosenanhydrid, vorbehalten werden sollte“.

Gegen diesen Vorschlag wäre nun nichts einzuwenden, wenn nicht schon bei Brauns, teilweise bei Cross und Bevan selbst „Furfuroid“ eine spezielle Bezeichnung geworden wäre, die Bezeichnung für dieselbe schwer hydrolisierbare furfurolliefernde Substanz, die jetzt ebenfalls als Pentosan erkannt ist. Denn ein Zweifel darüber kann nicht mehr bestehen, daß Cross und Bevan mit ihren Furfuroiden, oder wie sie früher sagten, Oxycellulosen, nichts anderes in Händen hatten, als in ihrem Verhalten gegen Säuren etwas abweichende Pentosane. Deren ganzes Verhalten bei der Hydrolyse, wie überhaupt ihre Darstellung, zwingen zu dem Schluß, daß es dieselben Körper sind, welche die beiden englischen Autoren Furfuroide nannten, und die sich bei genauer Untersuchung als Pentosane erwiesen. Der Name Furfuroide für diese speziellen Pentosane ist zum mindesten überflüssig, während er als Sammelbegriff für alle furfurolliefernden Substanzen eben wegen der Möglichkeit einer Verwechslung mit jener Spezialgruppe (Furfuroide im Sinne Brauns') sich nicht mehr gut eignet. Am besten ist es daher, den Ausdruck „Furfuroide“ ganz fallen zu lassen und dafür je nachdem Pentosane zu sagen, oder, wenn es sich um den Sammelbegriff handelt „furfurolliefernde Substanz“, sofern man

---

[1]) Journ. Am. Chem. Soc. 1900, 22, 630.

es überhaupt für nötig hält, diese heterogenen Körper: Pentosen, Osone, Glucuronsäure sowie oxydierte Hexosen und Hexosane unter einem Sammelnamen zu vereinigen; denn die in der Natur als solche vorkommenden „furfurolliefernden Substanzen“ scheinen doch sämtlich der Gruppe der Pentosane anzugehören.

Um die Resultate vorstehender Arbeit nochmals kurz zusammenzufassen, so sind

1. in den untersuchten Spelzen zwei Formen von furfurolliefernder Substanz zu unterscheiden: leicht und schwer hydrolisierbare; eine annähernde Trennung kann durch mehrstündiges Kochen mit 2%iger H_2SO_4 erfolgen.

2. Der dabei in Lösung gehende Körper erweist sich in jeder Hinsicht als Arabinose, seine Muttersubstanz muß daher als echtes Pentosan bezeichnet werden.

3. Der Rückstand zeigt sich ziemlich widerstandsfähig gegen verdünnte Säuren (nach Cross und Bevan auch gegen Alkalien). Die beste Aufschließungsmethode ist das Kochen mit 1%iger H_2SO_4 unter Druck von 3 bis 4 Atmosphären. Unter diesen Umständen werden rund 90% der gesamten furfurolliefernden Substanz gelöst und vollkommen hydrolisiert.

4. Entsprechend seinem Reduktionsvermögen, Phloroglucinreaktion, Unvergärbarkeit und Osazon erweist sich auch dieser Körper als Arabinose. Dessen Muttersubstanz muß daher ebenfalls ein Pentosan in irgendeiner Form enthalten.

5. Diese letzteren schwer hydrolisierbaren Pentosane sind gemäß Darstellung und einzelnen Eigenschaften unzweifelhaft mit den typischen Furfuroiden aus Biertrebern identisch. Aus diesem Grunde ist es daher auch wahrscheinlich, daß die aus denselben Ursachen wie diese Furfuroide für etwas anderes als Pentosane gehaltenen, natürlich vorkommenden furfurolliefernden Substanzen (Furfuroide und Oxycellulosen) dennoch Pentosankomplexe in sich schließen[1]).

6. Was die Methylenätherformel für diese Körper betrifft, so scheinen sie die beiden Autoren schon selbst aufgegeben zu haben, — vielleicht überzeugt durch Tollens[2]), denn in ihrer

[1]) Welche Körper die Ursache der Furfurolbildung der künstlichen Oxydationsprodukte der Hexosen und Hexosane sind, entzieht sich unserer Kenntnis. Jedenfalls ist z. B. das Oxydationsprodukt der Stärke keineswegs einheitlicher Natur.

[2]) Journ. Inst. Brew. 1898, 438.

letzten Veröffentlichung[1]) erwähnen sie diese mit keinem Worte mehr. Jedenfalls ist die Abwesenheit derartiger Körper durch vorstehende direkte und indirekte Untersuchungen mit Sicherheit nachgewiesen.

Eine genaue Erklärung zu geben, warum Cross und Bevan trotz der prinzipiell gleichen Untersuchungsweise zu abweichenden Ergebnissen gelangten, ist mir mangels näherer Kenntnis ihrer Arbeitsmethoden nicht möglich. Was die vermeintliche Gärung betrifft, so muß festgestellt werden, daß auch das Verhalten reiner Xylose und Arabinose bei längerer Gärungsdauer noch nicht vollkommen geklärt ist[2]). Das vermeintlich hohe Reduktionsvermögen kann durch das Vorkommen von Methylpentosen einerseits erklärt werden, anderseits auch durch zu lange fortgesetztes Trocknen der Trockensubstanz, wodurch diese nicht unbeträchtlich an Gewicht verliert; darauf bezogene Reduktionswerte müssen deshalb zu hoch erscheinen. Auf diese Weise können auch die teilweise abnorm hohen Furfurolausbeuten (bis 64 $^0/_0$ der Trockensubstanz) ihre Erklärung finden. Immerhin ist noch zu beachten, daß Cross und Bevan[3]) auch für die reinen Pentosen höhere Reduktionswerte gefunden zu haben glauben, als ihnen nach Weiser[4]) tatsächlich zukommt.

Auf jeden Fall enthalten die nach der Crossschen Methode dargestellten Lösungen der „Furfuroide", d. i. Pentosen noch eine ganze Reihe anderer Substanzen: Eiweißkörper, freie Säuren und ihre Abkömmlinge, Furfurol und andere Abbauprodukte aller Art.

Wenn man diesen Körpern auch keinen großen Einfluß auf die Reduktionsbestimmung zuschreiben kann, so ist es doch immerhin möglich, daß sie eine Farbenreaktion (Phloroglucin) in mehr oder minder störender Weise beeinflussen können. Daher auch die widersprechenden Angaben über diese Reaktion.

---

[1]) Journ. Am. Chem. Soc. 22, 630.

[2]) Vgl. Tollens, Annal. d. Chem. **249**, 257; Cross und Bevan, Journ. Chem. Soc. **71**, 1001; Tollens, Journ. Inst. Brew. **1898**, 438 und Schoene, Journ. f. Landw. **49**, 21.

[3]) l. c.

[4]) l. c.

Über die Giftigkeit, Resorption und Ausscheidung von Cotoin, dem Cotoin ähnlichen Stoffen und Paracotoin.

Von

A. Jodlbauer und S. Kurz.

(Eingegangen am 9. März 1916.)

Unter dem Namen „China coto" wurde 1873 eine in Bolivien heimische Droge nach Europa importiert, die C. Harz anatomisch, Wittstein chemisch und von Gietl[1]) klinisch als erste prüften.

J. Jobst isolierte aus ihr das Cotoin, das in Menge von 1,5 % darin enthalten ist. Da bald darauf eine ähnliche Rinde — von Bäumen an den Ufern des Flusses Mapiri in Bolivien stammend — importiert wurde, erhielt erstere die Bezeichnung Coto verum, letztere Paracoto.

Aus Paracoto wurden isoliert das Paracotoin, Hydrocotoin, Methylhydrocotoin, Protocotoin, Methylprotocotoin, Piperonylsäure, ätherische Öle und Harze.

Cotoin und Paracotoin sind von Ciamician und Silber[2]) chemisch richtig definiert worden.

A. Cotoin.

Cotoin ist der Monomethyläther des 2-, 4-, 6-Trioxybenzophenon.

$$\begin{array}{l} C_6H_2.(OH)_2.OCH_3 \\ | \\ C:O \\ | \\ C_6H_5 \end{array}$$

[1]) Diese 3 Arbeiten sind enthalten im Arch. f. Pharmacie 1875, 207, 213.

[2]) Ber. d. chem. Ges. **25**, 1, 1119; **26**, 1, 778; **26**, 3, 2340; **27**, 1, 410; **27**, 1, 841.

Zu unseren Versuchen wurde das Präparat von E. Merck verwendet. Von seiner Reinheit überzeugten wir uns durch die Schmelzpunktbestimmung (130°) und durch die Anstellung zweier für Ketone spezifischer Reaktionen, nämlich die Anlagerung von Hydroxylamin H_2NOH (Oximbildung) und die Anlagerung von HCN (Cyanhydrinsynthese).

Die Cyanhydrinsynthese, ausgeführt nach den Angaben des D.R.P. 85 280, ergab erstmalig die Cotoinoxysäure auf dem Wege

$$C_6H_2{=}\begin{matrix}-OCH_3\\(OH)_2\end{matrix} \atop {C=O \atop C_6H_5} + HCN = \begin{matrix}C_6H_2{\equiv}\begin{matrix}OCH_3\\(OH)_2\end{matrix}\\ \\ C_6H_5\end{matrix}\!\!>C<\!\!\begin{matrix}OH\\ \\ CN\end{matrix} \xrightarrow{\text{verseift}} \begin{matrix}C_6H_2{\equiv}\begin{matrix}OCH_3\\(OH)_2\end{matrix}\\ \\ C_6H_5\end{matrix}\!\!>C<\!\!\begin{matrix}OH\\ \\ COOH\end{matrix}$$

Cotoincyanhydrin. Cotoinoxysäure.

über die Verseifung des Cotoincyanhydrins mit Salzsäure. Die Cotoinoxysäure bildet große, gelbbraune Krystallnadeln.

Außer den von Ciamician und Silber angegebenen Lösungsmitteln (Alkohol, Äther, Chloroform, Aceton, Schwefelkohlenstoff, Benzol) ist Cotoin auch in Methyl- und Amylalkohol leicht löslich, und zwar mit gelber Farbe und etwas schwerer in Petroläther (einer Angabe Dragendorffs entsprechend). Die farblose Lösung in Petroläther veranlaßte vielleicht Ciamician und Silber von einer Unlöslichkeit in Petroläther zu sprechen.

Ätzende und kohlensaure Alkalien lösen das Cotoin mit anfänglich schön gelber Farbe, indem K resp. Na an Stelle des Wasserstoffs der OH-Gruppe tritt.

Diese Salzbildung ist im Reagensglas gut verfolgbar, doch treten — selbst wenn kohlensaure Alkalien hierzu verwendet werden — Substanzveränderungen ein. Nach längerem Stehen, schneller jedoch in der Wärme, lassen die Lösungen einen roten Niederschlag ausfallen. Alle Versuche, durch Eindampfen größerer Mengen Cotoin (1 g) mit KOH und nachherigem Ausschütteln der roten Massen mit Chloroform nach Säurezusatz, ein kristallinisches Produkt zu gewinnen, mißlangen, so daß wir die roten Massen als Verharzungsprodukt, als ein Ketonharz, ansprechen müssen. Diese den aromatischen Ketonen eigentüm-

liche Eigenschaft, leicht zu verharzen, fanden wir auch bei dem später beschriebenen Alizaringelb A bestätigt.

Betreffs der mit geringem Überschuß von Alkali bereiteten Lösungen sei auf ein für biologische Versuche wichtiges Verhalten hingewiesen. Leitet man durch diese Lösungen CO_2 durch, so nimmt die Alkalescenz ab, es tritt allmählich Entfärbung ein, die Lösungen nehmen kolloiden Charakter an, resp. es fällt bei höherer Konzentration das Cotoin aus. CO_2 entzieht eben das Alkali und somit den Lösungsfaktor.

1. Biologische Wirkungen des Cotoins.

Die Wirkung des Cotoins auf **Fäulnisbakterien** wurde des öfteren untersucht, so von Přibram[1]), Callmeyer[2]), Albertoni[3]) und Karb[4]). Eine bactericide Wirkung ist vorhanden, äußert sich aber auf die verschiedenen Mikroorganismen in verschieden starkem Grade. Ob sie auch bei Einführung der Substanz im Darmkanal stattfindet, wird von Přibram bejaht, von Albertoni bezweifelt. Eigene Versuche mit Bakterien stellten wir nicht an.

Auf Infusorien ist die Wirkung gering. Genau neutralisierte Lösungen töten in der Konzentration von 0,05 °/₀ das Paramaecium caudatum nach 3 Stunden; 0,025 °/₀ Lösungen bleiben wirkungslos. Es ist daraus zu schließen, daß eine besondere Wirkung auf das Protoplasma fehlt.

Um Wirkungen auf **Kaltblüter** zu erzielen, müssen alkoholische Lösungen oder solche in Natriumcarbonat verwendet werden, da die Löslichkeit in Wasser zu gering ist, um mit wässerigen Lösungen sichtbare Wirkungen zu erzielen. Verwendet wurde eine 1,63 °/₀ige Lösung mit 2 °/₀ Natrium carbonicum ($= {}^{m}/_{15}$-Lösung). Während von 2 °/₀ Natrium carbonicum-Lösung mehrere Kubikzentimeter subcutan von Fröschen vertragen werden, ist die tödliche Dosis obiger Cotoinlösung 0,5 ccm, somit 0,008 g Cotoin. Nach 15 Minuten hören die willkürlichen Bewegungen auf, nach weiteren 10 Minuten sind die Reflexe stark abgeschwächt. Das Herz schlägt noch, kontrahiert sich aber nur mehr unvollständig und bleibt in Mittelstellung stehen,

[1]) Prager med. Wochenschr. **1880**, Nr. 31, 301.
[2]) Inaug.-Dissert. Göttingen **1883**.
[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **17**, 291, 1883.
[4]) Deutsch. Arch. f. klin. Med. **1903**, 76, 30.

bevor die Reflexe, mitunter auch die Atmung erloschen sind. Die Muskeln sind in diesem Stadium vom Nerv aus gut erregbar.

Fische werden durch Cotoin stark beeinflußt. Alkalische Lösungen, mit Ringer-Lösung auf die Konzentration 1 : 10000 verdünnt, bewirken, daß die Tiere sich fast sofort zur Seite legen, ihre Gleichgewichtslage nicht mehr halten können, dann ihre willkürlichen Bewegungen einstellen und nach 5 Minuten zu atmen aufhören.

Bei Rückgabe in giftfreie Lösung tritt nach 5—10 Minuten Erholung ein. In hohen Konzentrationen wäre es denkbar, daß diese starke Beeinflussung der Fische zum Teil eine Säurewirkung darstellt; denn durch die CO_2-Ausscheidung der Tiere werden die Lösungen schwach sauer durch Verdrängung des zur Lösung des Cotoins notwendigen Alkali. In stärkeren Verdünnungen spielt der Säurecharakter des Cotoins keine Rolle mehr, wenn auch der Eintritt oben geschilderter Wirkung durch fortgesetzte Zugabe kleiner Alkalimengen verzögert werden kann.

In Lösungen 1 : 30000 erlöschen die willkürlichen Bewegungen erst nach ca. 1 Stunde, und die Tiere legen sich zur Seite. Die reflektorische Erregbarkeit ist erhalten, eher sogar gesteigert. Zum Atemstillstand kommt es nicht mehr. Bei Verweilen in der Cotoin-Lösung erholen sich die Tiere nach 10—12 Stunden, wenn für genügend Sauerstoff in der Lösung gesorgt ist. Es muß sich daher die Lösung entgiftet haben, was mit der CO_2-Ausscheidung der Tiere zusammenhängen wird (siehe chemischen Teil der Arbeit).

Wirkung des Cotoins auf Fische (Bitterling, Rhodeus amarus).

Konzentration	Erlöschen willkürlicher Bewegungen Minuten	Erlöschen der Atmung Minuten
1 : 10000	1	5
1 : 20000	20	40
1 : 25000	30	60
1 : 30000	60	Atmung bleibt erhalten

Wenn die Wirkung auf Frösche, bei denen nach Eintritt des Herzstillstandes die Muskeln vom Nerv aus noch gut erregbar sind, hier zum Vergleiche herangezogen werden darf,

wird es sich bei der Sistierung der willkürlichen Bewegung um eine zentrale Wirkung handeln.

Warmblüter vertragen per os große Mengen von Cotoin, ohne daß sichtbare Wirkungen beobachtet werden können. Es entspricht dies früheren Versuchen von Burkart[1]) und von Albertoni. Letzterer sah nur ein kurz andauerndes Absinken der Temperatur nach intravenöser Injektion.

Die therapeutische Verwendung des Cotoins bei chronischen Diarrhöen und ähnlichen Krankheitsbildern erklärte Albertoni durch Erweiterung der Darmgefäße, durch welche die Ernährung und der Wiederersatz der Schleimhaut, sowie die Resorptionsfähigkeit begünstigt werden soll.

Zur Entscheidung der Frage, ob Cotoin allgemein die Gefäße erweitert — wie nach Albertonis Versuchen zu erwarten ist — wurden am Trendelenburgschen Froschpräparate diesbezügliche Versuche gemacht. Bei Zusatz von 0,1 bis 0,2 g Cotoin (gelöst in möglichst wenig Alkali) zu 1000 ccm Ringer-Lösung trat eine Abnahme der Zahl der aus der Vene abfließenden Tropfen ein. Außerdem nahm die Muskelerregbarkeit bei Nervenreizung ab.

Cotoinkonzentration	Ausfließende Tropfen aus der Vene				Tetanus bei Rollenabstand des Du Boischen Schlittenapparats			
	vorher	nach 1 Std. Durchlauf	nach 2 Std. Durchlauf	nach 3 Std. Durchlauf	vorher	nach 1 Std. Durchlauf	nach 2 Std. Durchlauf	nach 3 Std. Durchlauf
1 : 5000	24	17	9	7	26	22	0	kein Tetanus mehr
1 : 10000	25	22	12	10	25	22	20	0

Der Versuch ergab somit das Gegenteil der erwarteten Wirkung — nämlich eine Gefäßverengerung. Es fiel aber auf, daß die durchströmende Flüssigkeit die der Cotoinlösung eigentümliche gelbe Farbe verlor, wohl darauf beruhend, daß der Cotoinlösung durch die von den Geweben abgegebene Kohlensäure Alkali entzogen und das Cotoin frei wurde (siehe chemische Bemerkung in der Einleitung). Das wasserunlösliche Cotoin wird die feineren Gefäße und Capillaren verlegen, ein Umstand, der für alle diesbezüglichen Versuche in Erwägung zu ziehen

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 14, 276, 1877.

ist. Es trifft dies auch für die Durchströmungsversuche Albertonis zu, womit er seine Ansicht über die therapeutische Wirkung zu stützen suchte. Viel wahrscheinlicher ist die Annahme von Impens[1]), daß die therapeutische Wirkung in der Herabsetzung des Darmtonus und der Erschlaffung der Darmmuskulatur besteht.

Das Fehlen sichtbarer Wirkungen bei Einführung des Cotoins per os läßt vermuten, daß die Substanz vom Darm aus nicht oder nur wenig resorbiert wird. Über die Resorbierbarkeit liegen nur Angaben von L. M. Petrone[2]) und von Albertoni vor, der aus dem Ätherauszug des eingedampften Harns die Anwesenheit des Cotoins durch Farbenreaktionen nachwies und daraus den Schluß zog, daß Cotoin unverändert im Harne erscheint, welcher Ansicht auch Burkart sich anschloß. Über die Größe dieser Ausscheidung im Harne fehlen Angaben. Darüber sollen die folgenden Versuche Aufschluß geben.

2. Resorption und Ausscheidung des Cotoins.

Es mußte zur Lösung dieser Frage eine Methode ausgearbeitet werden, Cotoin aus dem Harne quantitativ zu isolieren. Zu diesem Zwecke wurden Vorversuche gemacht, dem Harne zugesetztes Cotoin wiederzugewinnen. Der mit in CO_3Na_2 gelöstem Cotoin versetzte Kaninchenharn wurde mit einigen Kubikzentimetern verdünnter Salzsäure angesäuert, auf dem Wasserbad bis auf ein kleines Volumen eingeengt und mit so viel reinem, gebranntem Gips versetzt, daß sich eine gerade noch leicht verreibbare Masse bildet. Diese Masse wird fein verrieben, im Trockenschrank bei 100° noch 2—3 Stunden getrocknet, hierauf quantitativ aus der Porzellanschale in die Hülse eines Soxhletextraktionsapparates gebracht. Nun wird $2^1/_2$ Stunden mit Chloroform extrahiert, vom Chloroformextrakt das Chloroform verjagt, der Rückstand in verdünnter CO_3Na_2 gelöst, in einen Schütteltrichter hineinfiltriert, mit HCl angesäuert und erschöpfend mit Chloroform ausgeschüttelt. Nach abermaligem Abdunsten des Chloroforms auf dem Wasserbade mit aufgesetztem, ungekühltem Rückflußrohr blieb neben einer gewissen Menge nicht entfernbarer Harnbestandteile das Cotoin

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1912, 38, 1827.

[2]) L. M. Petrone: Annal. univers. di med. Giugno 1883, 545.

in wägbarer Form zurück. Um zuerst die Menge der aus dem Normalharn ohne Cotoinzusatz durch das geschilderte Verfahren extrahierbaren Stoffe festzustellen, wurden normale Harne verarbeitet und aus mehreren Analysen der Durchschnittswert bestimmt.

Er betrug: 0,0369 g für 100 ccm Harn.

Dieser Wert mußte also von den durch das Isolierungsverfahren für Cotoin ermittelten Werten abgezogen werden, um die wahre Menge des isolierbaren Cotoins zu erfahren. Außerdem mußte noch geprüft werden, ob durch Versetzen mit Gips das Cotoin verändert wird und ob es sich daraus quantitativ trennen läßt; deshalb wurde eine Probeanalyse Cotoin + Gips allein ausgeführt: hierbei gelang es, 99,6 % des zugesetzten Cotoins unverändert wiederzufinden.

Die nun nach diesem Verfahren ausgeführten Analysen zur Isolierung des dem Harn zugesetzten Cotoins ergaben:

Harnmenge ccm	Zugesetztes Cotoin g	Gefundenes Cotoin abzüglich des Normalwertes g	%
100	0,3125	0,287	92
100	0,370	0,3632	98
100	0,226	0,1905	85
100	0,2235	0,237	106

Im Durchschnitt wurden also 95 % des zugesetzten Cotoins gefunden. Das Ergebnis dieser Analysen zeigte, daß somit eine hinlänglich genaue Methode zur Bestimmung des freien Cotoins im Harn gefunden war.

Es konnte also zu den Versuchen übergegangen werden, die Menge des im Harne ausgeschiedenen Cotoins nach Verfütterung dieser Substanz zu bestimmen. Die Ergebnisse der auf diese Art gemachten Analysen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Menge des verfütterten Cotoins g	Analysierte Harnmenge ccm	Zeit nach der Fütterung Stunden	Gesamte Extraktionsmenge g	Berechnet auf 100 ccm Harn g
0,324	400	72	0,062	0,015
0,379	340	72	0,032	0,010
0,203	210	48	0,066	0,031
0,233	250	48	0,100	0,040
0,501	190	48	0,052	0,027
0,3887	200	48	0,06	0,030

Die durch die Extraktion erhaltenen Mengen waren überraschend klein. Sie sind auf 100 ccm Harn berechnet, sogar noch etwas kleiner als die Zahlen, die auch aus Normalharnen erhalten werden, und es drängt sich der Schluß auf, daß freies Cotoin selbst in Spuren im Harn nicht ausgeschieden wird.

Damit ist die bisher beibehaltene Ansicht Albertonis, Cotoin erscheine als solches im Harn, widerlegt. Zur weiteren Sicherung dieses Befundes wurde noch eine andere Extraktionsmethode gewählt, und zwar die mit Petroläther. Auch mit Petroläther läßt sich kein Cotoin isolieren.

Es ist also, wenn Cotoin resorbiert wird, nur möglich, daß die Ausscheidung nicht durch den Harn erfolgt oder daß es im Organismus eine Veränderung erleidet, und im Harne entweder Spaltungs- oder Paarungsprodukte auftreten. Letztere Frage zu entscheiden, wurde an die Feststellung von Ciamician und Silber angeknüpft, daß Cotoin durch Schwefelsäure in Benzoesäure und Phloroglucin zerfällt. Wäre diese Spaltung eine vollkommene, so ließe sich aus der Menge der abgespaltenen Benzoesäure die Cotoinmenge berechnen. Rein theoretisch müßte die Spaltung, wenn unter Wasseraufnahme Phloroglucinmonomethyläther und Benzoesäure entstünde, zu 50,04 % Benzoesäure führen.

$$C_6H_2(OCH_3)(OH)_2.CO.C_6H_5 + HOH$$
$$= C_6H_3(OCH_3)(OH)_2 + COOH.C_6H_5.$$

Bei der Zerlegung des von uns verwendeten Cotoins durch Schwefelsäure ergaben sich 50,33 % Benzoesäure, und es war der Beweis geliefert, daß die theoretisch mögliche Menge von Benzoesäure gebildet wird und somit auf dieser Zerlegung sich eine genaue quantitative Bestimmungsmethode des Cotoins aufbauen läßt.

Diese Methode auf den Harn zu übertragen, stieß auf Schwierigkeiten, darin bestehend, daß die Benzoesäure aus dem Harne sehr schwer mit Wasserdampf überdestillierbar ist, ferner daß die einfache Titration der Benzoesäure im Destillate mit Normallauge unmöglich ist, da in das Destillat auch sauer reagierende Phenole übergehen, ferner daß aus der im Harne vorhandenen Hippursäure Benzoesäure sich abspaltet. Um letzteren Fehler möglichst klein zu gestalten, wurden die

Kaninchen nur mit Brot und Gerste gefüttert. So gefütterte Tiere scheiden dann Hippursäure nur in einer Menge aus, die im Durchschnitt auf 100 ccm Harn berechnet 0,019 g Benzoesäure ergab.

Die zur Benzoesäurebestimmung angewendete Methode schloß sich im wesentlichen der von Seo an. Das Verfahren war folgendes:

100 ccm Harn werden mit 45 ccm konz. H_2SO_4 in einen 750 ccm fassenden Destillierkolben gebracht und 15 mal mit 30 ccm Wasser destilliert in eine mit 10 ccm Soda beschickte Vorlage. Das mit Natriumcarbonat schwach alkalisch gemachte Destillat wird auf ein kleines Volumen eingedampft, in einem Scheidetrichter mit Phosphorsäure angesäuert und 6 mal mit 30 ccm rektifiziertem Petroläther vom Siedepunkt 45° ausgeschüttelt. Die einzelnen ausgeschüttelten Petrolätherportionen wurden vorsichtig durch eine mit Gummischlauch zum Saugen versehene Pipette abgehoben und in einen zweiten, mit Wasser beschickten Scheidetrichter gebracht, wieder ausgeschüttelt, mit Pipette abgehoben und in ein gewogenes Becherglas gebracht. Nach Verdunsten des Petroläthers bei ca. 30° bei gleichzeitigem Darüberleiten eines Luftstromes wurde die tadellos weiße Benzoesäure gewogen.

Die Analysen ergaben:

Verfüttertes Cotoin g	Analysierte Harnmenge ccm	Zeit seit der Fütterung Stunden	Gefundene Benzoesäure	Auf Cotoin berechnet	% des angewandten Cotoins
0,3	100	48	0,164	0,328	109
0,4	190	48	0,197	0,393	98
0,4	245	36	0,1955	0,391	97,8

Das Cotoin erscheint somit nach 24 bis 48 Stunden vollkommen im Harn, allerdings nicht in freier Form, sondern in einer Verbindung, aus der sich Benzoesäure abspalten läßt.

Es lag nahe, daran zu denken, daß das Cotoin im Organismus sich paart, ähnlich wie aromatische Körper mit freien Hydroxylgruppen (Phenole) zwecks Entgiftung mit Schwefelsäure gepaart werden. Da das Cotoin ein Phenolderivat ist und 2 freie OH-Gruppen besitzt, lag die Vermutung nahe, daß es ebenfalls als gepaarte Schwefelsäure den Körper verläßt.

Es wurden daher Schwefelsäurebestimmungen nach Neubauerschen Verfahren — Verbrennung des Baryumsulfatniederschlages im Platintiegel — ausgeführt. In der folgenden Tabelle sind die gewonnenen Werte in normalen Harnen und in denen nach Cotoinverfütterung eingetragen. Es handelt sich stets um eine 48-Stundenmenge.

Verfüttertes Cotoin g	Gesamt-SO_4 g	Sulfat-SO_4 g	Gepaarte SO_4 g	Durchschnittswert der gepaarten SO_4 g
0	0,3982	0,3832	0,015	} 0,02
0	0,1200	0,0950	0,025	
0,35	0,7100	0,6070	0,103	} 0,086
0,3	0,1989	0,1099	0,089	

Nach der Cotoinfütterung ist somit die gepaarte Schwefelsäuremenge bedeutend gesteigert.

Zieht man von den nach der Cotoinfütterung gewonnenen Werten der gepaarten SO_4 den in normalen Harnen gefundenen Wert ab, so darf der erhaltene Rest als mit Cotoin gepaart angenommen werden. Da ein Schwefelsäuremolekül ein Cotoinmolekül binden wird, läßt sich das an SO_4 gebundene Cotoin berechnen.

Mit Cotoin gepaarte SO_4 g	Entsprechende Cotoinmenge g	Ausgedrückt in % des gefütterten Cotoins
0,083	0,2110	60,3
0,069	0,1753	58,4

Es ist somit mehr als die Hälfte des im Harne ausgeschiedenen Cotoins an SO_4 gebunden.

Die Vermutung lag nahe, daß auch der Rest des Cotoins an irgendeinen anderen Körper gebunden im Harne erscheint. Nencki hat nun für die gemischten aliphatisch-aromatischen Oxyketone die Paarung mit der besonders durch C. Neuberg[1]) studierten Glukuronsäure festgestellt. Da Cotoin der Äther eines aromatischen Oxyketons ist, könnte auch hier diese Paarung vorhanden sein.

Es wurde deshalb zu Glukuronsäurebestimmungen übergegangen.

Wir benutzten die Methode nach C. Tollens mit Bleiessigammoniakfällung und nachfolgender Furfuroldestillation.

[1]) C. Neuberg, Der Harn, 429—460.

Die im Harn vorhandenen gepaarten Glukuronsäuren werden durch Bleiessig und Ammoniak gefällt, filtriert, der Bleiniederschlag durch Salzsäure zerlegt und durch überschüssige Salzsäure die freigewordene Glukuronsäure in Furfurol zerlegt. Das gebildete Furfurol wird mit Phloroglucin als Furfurolphloroglucid gefällt, abfiltriert und gewogen. Aus der Menge des gewogenen Furfurolphloroglucids läßt sich durch Multiplizieren mit 3 das vorhandene Glukuronsäurelacton berechnen.

Auf diese Weise fanden wir in normalen Kaninchenharnen 0,0324 g Glykuronsäure pro 100 ccm Harn, ein Wert, der sich mit dem von F. N. Schulz angegebenen gut deckt.

Die nach Cotoinfütterung gefundenen Glukuronsäurewerte und die daraus berechenbaren an Glukuronsäure gebundenen Cotoinmengen sind in folgender Tabelle zusammengestellt:

Verfüttertes Cotoin g	Gefundene Glykuronsäure g	Nach Abzug des Normalwertes g	Entspricht einer Menge von Cotoin g	Ausgedrückt in °/₀ des angewandten Cotoins
0,318	0,162	0,1296	0,1784	56,1
0,71	0,180	0,1476	0,205	29,0
1,0	0,327	0,2946	0,408	40,8

Die Analysen zeigen, daß durchschnittlich 42 °/₀ des eingeführten Cotoins mit Glukuronsäure sich paart. Dieses Resultat stimmt auch mit dem bei der gepaarten Schwefelsäure gefundenen überein. Dort wurden 59 °/₀ Cotoin als an Schwefelsäure gebunden ermittelt; zählt man hierzu die 42 °/₀ Cotoin, die an Glykuronsäure gebunden sind, so ergibt sich eine Ausscheidung von 101 °/₀.

Es wurde also auch durch die Paarungsanalysen der Nachweis erbracht, daß das Cotoin vollständig resorbiert wird und gepaart an Schwefelsäure und Glukuronsäure vollständig im Harne erscheint.

B. Dem Cotoin verwandte Stoffe.

Alizaringelb [A] und Hydrocotoin und Fortoin.

Alizaringelb A ist Trioxybenzophenon und unterscheidet sich daher vom Cotoin durch das Fehlen der Methylgruppe: $C_6H_2(OH)_3.CO.C_6H_5$. Da die Badische Anilin- und Sodafabrik den Körper nicht mehr liefert, wurde er von dem

einen von uns (S. Kurz) selbst hergestellt. Sein Schmelzpunkt war 140°.

Hydrocotoin ist der Dimethyläther des Trioxybenzophenons, besitzt somit eine Methylgruppe mehr als Cotoin (= Monomethyläther des Trioxybenzophenons):

$$C_6H_2(OCH_3)_2OH.CO.C_6H_5.$$

Der Körper ist in der Paracotorinde enthalten.

1. Biologische Wirkungen.

Auf Infusorien ist die Wirkung beider Körper, ähnlich wie bei Cotoin, gering.

Fische verlieren in den Lösungen der beiden Stoffe — entsprechend wie in der Cotoinlösung — die Fähigkeit, ihre Gleichgewichtslage zu erhalten, stellen die willkürlichen Bewegungen ein, während die Atmung noch länger im Gange bleibt.

Wirkung des Alizaringelb A auf Bitterlinge.

Konzentration der Lösung	Aufhören der willkürlichen Bewegung Minuten	Erlöschen der Atmung Minuten
1 : 1000	fast sofort	2
1 : 8000	30	60
1 : 10000	wirkungslos	wirkungslos

Wirkung des Hydrocotoins.

Konzentration der Lösung	Aufhören der willkürlichen Bewegung Minuten	Erlöschen der Atmung Minuten
1 : 20000	10	25
1 : 40000	45	120
1 : 60000	150	700
1 : 100000	zeitweises Aufhören	kein Erlöschen

Zieht man die Wirkung des Cotoins zum Vergleiche bei, so sieht man, daß der Eintritt der Methylgruppen zu Wirkungssteigerung führt.

Gleiches ergeben die Versuche an Kaulquappen. In diese Versuchsreihe wurde auch Fortoin[1]) hereingezogen, bei dem 2 Moleküle Cotoin durch eine CH_2-Gruppe verkuppelt sind: $C_{14}H_{11}C_4.CH_2.C_{14}H_{11}O_4$ (Methylendicotoin). Diese Kuppelung führt zu einer weiteren Wirkungssteigerung.

---

[1]) Deutsches Reichs-Patent Nr. 104362.

Erlöschen der Reflexe bei Kaulquappen in Stunden.

	Konzentration der Lösungen					
	1:4000	1:10000	1:20000	1:40000	1:60000	1:80000
Alizaringelb A . .	5	ohne W.	ohne W.	ohne W.	ohne W.	ohne W.
Cotoin		1	2½	ohne W.	ohne W.	ohne W.
Hydrocotoin . . .			1¼	3	4½	ohne W.
Fortoin			1	1½	2¼	3½

2. Resorption und Ausscheidung.

Nach Fütterung von Kaninchen mit Alizaringelb A wurden in der 48 stündigen Harnmenge die Benzoesäure, Schwefel- und Glykuronsäure nach den beim Cotoin angegebenen Methoden bestimmt.

I. Bestimmung der nach Alizaringelb A-Verfütterung abspaltbaren Benzoesäure.

Verfüttertes AlizaringelbA g	Harnmenge ccm	Gef. Benzoesäure g	Entspricht AlizaringelbA g	In % des verfütterten AlizaringelbA
0,4	145	0,223	0,446	111

II. Bestimmung der Schwefelsäuren nach Alizaringelb A-Verfütterung,

Verfüttertes Alizarin-gelb A g	Gesamt-Schwefel-säure g	Gepaarte Schwefel-säure g	An Alizarin-gelb A gebundene g	Entspricht Alizarin-gelb A g	In % des verfütt. Alizarin-gelb A
0,35	0,1081	0,078	0,059	0,141	40,3

III. Glukuronsäurebestimmung nach Alizaringelb A-Verfütterung.

Verfüttertes Alizaringelb A	Gefundene Glukuronsäure g	An Alizaringelb A gebunden g	Entspricht Alizarin A g	Ausgedrückt in % des verfütterten Alizaringelb A
0,47	0,255	0,2226	0,291	62

Die Analysen ergeben, daß Alizaringelb A vollständig resorbiert wird und wie Cotoin teils an Schwefelsäure, teils an Glukuronsäure gebunden, den Organismus verläßt.

C. Paracotoin.

Dieser Hauptvertreter der aus der Paracotorinde gewonnenen Stoffe wird therapeutisch in gleicher Richtung und gleicher

Menge verwendet wie Cotoin. Der therapeutische Effekt ist aber nach Bälz[1]) und Albertoni geringer, was mit der schwereren Löslichkeit in Wasser zusammenhängen dürfte.

Paracotoin ist nach Ciamician und Silber ein Lacton von der Formel:

```
                          H
                          C
                        /   \\
          O          HC      CH
        /   \        ||      |
    H2C      C6H3 . C        CO
        \   /         \     /
          O              O
```

Es hat also 2 doppelte Bindungen, entsprechend denen es Brom addiert und die Baeyersche Reaktion auf doppelte Bindungen gibt. Da es keine freien Hydroxylgruppen, wie sie das Cotoin hat, besitzt, löst es sich nicht in Ätzalkalien, sondern geht beim Kochen mit KOH in Paracotoinsäure $C_{12}H_{10}O_5$ über, wobei noch ein im Geruch an Cumarin erinnernder, von Jobst und Hesse Paracumarhydrin genannter und von Ciamician und Silber als Acetopiperon charakterisierter, flüchtiger Stoff entsteht.

Zu unseren Versuchen verwendeten wir das Präparat von E. Merck, das als purissimum bezeichnet wird und frei von Leucotin ist.

1. Biologische Wirkungen des Paracotoins.

Versuche mit Infusorien waren wegen der geringen Wasserlöslichkeit unmöglich.

Wirkungen bei Fröschen sind nur mit alkoholischen Lösungen zu erzielen. 0,01 g, gelöst in 0,2 ccm Alkohol, bewirkt Einstellung der willkürlichen Bewegungen, starke Abnahme der Reflexe und zeitweises Aussetzen der Atmung. Die Tiere erholen sich aber wieder.

0,015 g Paracotoin, in 0,3 ccm Alkohol gelöst, wirken tödlich. Die gleiche Menge Alkohol allein machte nur geringe Betäubung. Diese Dosis als Dosis toxica zu bezeichnen, ist nicht angängig, da bei derartig alkoholischen Lösungen die Resorption der Substanz mit der des Alkohols nicht Schritt

---

[1]) Bälz, Med. Centralbl. 16, 482, 1878.

hält und teilweise Paracotoin unresorbiert im Lymphsacke liegen bleibt.

Fische (Bitterlinge) stellen in Paracotoinlösungen nach einiger Zeit ihre willkürlichen Bewegungen ein, später erlischt die Atmung.

Konzentration	Aufhören der willkürlichen Bewegung Minuten	Erlöschen der Atmung Minuten
1:20000	20	45
1:30000	80	160
1:40000	300	560

Paracotoin ist somit — wenigstens auf Fische — geringer giftig als Cotoin, scheint ihm aber in seiner Wirkung nahe zu stehen. Warmblüter (Kaninchen) vertragen per os große Mengen, ohne daß sichtbare Wirkungen in Erscheinung treten. Burkart sah bei 1,0 g subcutan ebenfalls keine Wirkungen. Angaben, wie so große Mengen subcutan verabreicht werden konnten, fehlen.

2. Resorption und Ausscheidung des Paracotoins.

Die geringe Löslichkeit in Wasser sowie in Alkalien lassen vermuten, daß der Körper in sehr geringem Maße vom Magendarmkanal aus resorbiert wird. Um dies zu entscheiden, wurde der Harn von Kaninchen nach Fütterung mit Paracotoin auf diesen Stoff, sowie auf die Menge der gepaarten Schwefelsäure und Glykuronsäure untersucht.

Nach Fütterung mit 0,4 bis 0,45 g Paracotoin zeigt der Harn hellgelbe Farbe, saure Reaktion und scheint in der Menge etwas vermehrt zu sein. Die Gelbfärbung wird nach Laugenzusatz intensiv. Kocht man den Harn mit Lauge, so tritt nach einiger Zeit der Geruch nach Acetopiperon auf, wie er beim Kochen der Substanz mit Lauge entsteht.

Extrahiert man den angesäuerten Harneindampfrückstand mit Chloroform, oder schüttelt man den angesäuerten Harn mit Äther oder Chloroform aus, so bekommt man nach Entfernung des Auszugs einen gelbbraunen Rückstand, der sich in Alkohol leicht löst und auch mit heißem Wasser bis auf weniges löslich ist. Dieser Rückstand gibt mit Natronlauge sofort eine intensiv blutrote, beständige Färbung; eine weniger starke Rot-

färbung tritt auch vorübergehend mit HNO_3 auf. Erhitzt man den Rückstand mit konzentrierter Salpetersäure, so erhält man nach dem Verdünnen mit Wasser einen feinen, gelben Niederschlag, der abfiltriert im Wasser unlöslich war, in Aceton sich jedoch spielend löste. Letztere Eigenschaft deutet auf das Nitroprodukt des Paracotoins hin, das Nitroparacotoin. Mit essigsaurem Blei wird eine voluminöse gelbe Fällung erhalten.

Von den aufgeführten Reaktionen weisen der gelbe Bleiniederschlag, die Bildung von Nitroparacotoin und der charakteristische Geruch nach Acetopiperon beim Kochen mit KOH auf die Anwesenheit des Paracotoins hin. Daß es aber nicht in freier Form vorlag, darauf deutet der Umstand, daß das Ausschüttelungsprodukt in heißem Wasser ziemlich leicht löslich war und daß der Geruch nach Acetopiperon erst nach längerer Zeit auftrat, während er beim unveränderten Paracotoin sofort auftritt und das freie Paracotoin fast wasserunlöslich ist. Die daraufhin ausgeführten Untersuchungen über die Paarung des Paracotoins bestätigten diese Ansicht.

a) Schwefelsäurebestimmung nach Paracotoinverfütterung.

Verfüttertes Paracotoin g	Gesamt-SO_4 g	Gepaarte SO_4 g	An Paracotoin gebunden g	Entsprechend einer Menge Paracotoin g	Ausgedrückt in % des verfütterten Paracotoins
0,4	0,21	0,1317	0,1127	0,253	63,2

b) Glykuronsäurebestimmung nach Paracotoinverfütterung.

Verfüttertes Paracotoin g	Glykuronsäure g	Nach Abzug des Normalwertes g	Entsprechend einer Menge von Paracotoin g	Ausgedrückt in % des verfütterten Paracotoins
0,45	0,15	0,1176	0,143	32

Das vermehrte Auftreten der gepaarten Schwefelsäure und der Glukuronsäure im Harn nach Paracotoinverfütterung drängen — neben den bereits oben angegebenen Beobachtungen — zum Schlusse, daß auch das Paracotoin mit diesen beiden Stoffen im Organismus sich paart.

Ist die Berechnung, die auf der Annahme sich gründet, daß an ein Molekül der Glukuronsäure resp. der gepaarten Schwefelsäure ein Molekül Paracotoin gebunden ist, erlaubt, so

ist daraus der Schluß zu ziehen, daß das gesamte verfütterte Paracotoin resorbiert wird und, gepaart an Schwefelsäure und Glukuronsäure, im Harn wieder erscheint.

Zusammenfassung.

1. Das Cotoin und die ihm chemisch nahestehenden Körper (Alizaringelb A, Hydrocotoin und Fortoin) sind keine allgemeinen Protoplasmagifte. Infusorien vertragen diese Stoffe in hohen Konzentrationen.

2. Für die Bestimmung der Giftigkeit eignen sich Fische und Kaulquappen, wobei sich ergibt, daß die Giftigkeit ansteigt vom Alizaringelb A (ohne Methylgruppe) zum Cotoin (mit 1 Methylgruppe) zum Hydrocotoin (mit 2 Methylgruppen). Ebenso wirkt die Kuppelung zweier Cotoingruppen mit CH_2 (Fortoin) giftigkeitssteigernd.

3. Bei Fischen und Kaulquappen erlöschen die willkürlichen Bewegungen bedeutend früher als die Atmung. In geeigneten Konzentrationen kehren die willkürlichen Bewegungen nach einiger Zeit wieder. Werden die an Fröschen gemachten Beobachtungen zur Erklärung herangezogen, so beruht die Einstellung der willkürlichen Bewegungen auf zentraler Wirkung.

4. Paracotoin, obgleich chemisch von obigen Körpern weit entfernt, wirkt ähnlich.

5. Auf Warmblüter (Kaninchen) sind sämtliche Stoffe sehr wenig giftig.

6. Cotoin und die ihm chemisch nahestehenden Stoffe werden vom Darm aus vollständig resorbiert und erscheinen vollständig im Harn, jedoch nicht in freier Form, sondern gepaart mit Schwefelsäure und Glukuronsäure.

7. Auch Paracotoin scheint vollständig resorbiert zu werden und ebenfalls mit obigen beiden Stoffen gepaart im Harn aufzutreten.

Eine neue Methode zur Bestimmung von Kohlenoxyd im Blut.

Von

K. L. Gad-Andresen.

(Aus dem tierphysiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(*Eingegangen am 11. März 1916.*)

Mit 3 Figuren im Text.

Die Methoden, die bisher zur Bestimmung von Kohlenoxyd zusammen mit Sauerstoff im Blute angewandt wurden, sind nicht befriedigend gewesen. Die am häufigsten benutzte von ihnen ist die von Haldane angegebene Carminmethode, die von Haldane und seinen Mitarbeitern ausgearbeitet ist. Das Prinzip dieser Methode besteht darin, daß, indem man eine Carminlösung von einer bestimmten Stärke in eine Auflösung von normalem Blut in Wasser bringt, ein Farbenton hervorgerufen wird, der demjenigen gleich ist, der eine Kohlenoxyd enthaltende Blutlösung besitzt. Die angewandte Menge Carminlösung mit der Menge verglichen, die notwendig ist, um der normalen Blutlösung den Farbenton von mit CO völlig gesättigtem Hämoglobin zu verleihen, ist ein Maß für die prozentuale Kohlenoxydsättigung.

Haldane und Douglas haben eine sehr genaue Beschreibung der Methode gegeben[1]). Sie haben mehrere Reihen von Kontrollanalysen veröffentlicht und durchgehends eine Genauigkeit von $\pm 1\,\%$ erzielt.

Da die Verwendung von Haldanes Methode bei einer Reihe von Untersuchungen hier auf dem Laboratorium beabsichtigt war, wurden verschiedene Kontrollversuche vorgenommen, die auf die Weise ausgeführt wurden, daß eine

[1]) Journ. of Physiol. 44, 309 bis 315, 1912.

Person verschiedene Blutproben mit verschiedenen Kohlenoxydmengen herstellte, worauf eine andere die Titrierung wie oben beschrieben ausführte. Die Blutproben wurden auf die Weise hergestellt, daß in je zwei 500 ccm-Flaschen 15 ccm frisch defibriniertes Ochsenblut abgemessen wurde. Die eine Blutprobe wurde mit atmosphärischer Luft, die andere mit einer 10%igen Kohlenoxydmischung gesättigt. Aus diesen zwei Blutproben wurden dann verschiedene Mischungen mit verschiedener Kohlenoxydmenge hergestellt, indem bei der Berechnung auf das Kohlenoxyd Rücksicht genommen wurde, das das Blut physisch absorbiert hatte. Der Versuch wurde auf folgende Weise gemacht: In einem Zimmer, von dem das Tageslicht durch schwarze Gardinen ferngehalten wurde, wurden aus den obengenannten 2 Blutproben z. B. 4 verschiedene Blutproben mit einem Kohlenoxydgehalt von 15 bis 18 bis 25 bis 33% hergestellt. Bei den Titrierungen, die nun ausgeführt wurden, nachdem man das Tageslicht eingelassen hatte, zeigte es sich trotz wiederholter Versuche unmöglich, Resultate zu erzielen, die nur annähernd richtig waren. Die Titrierung mußte daher vorläufig aufgegeben werden, bis untersucht wurde, ob es überhaupt möglich wäre, einen Farbenunterschied zwischen den verschiedenen Konzentrationen von Kohlenoxydblut mit genügender Genauigkeit festzustellen. Die Versuche wurden auf die Weise gemacht, daß 4 verschiedene Blutproben hergestellt wurden, mit einem Kohlenoxydgehalt von z. B. 15 bis 18 bis 20 bis 25%. Es wurden nun von jeder der verschiedenen Blutproben mit großer Genauigkeit 0,025 ccm abgemessen und in Reagensgläsern von genau derselben Weite im Verhältnis 1 : 200 mit Wasser verdünnt. Die Kontrollversuche gingen nun darauf aus, die vier Proben je nach ihrer Farbe von gelb nach rot hin in Reihenfolge zu ordnen. Es zeigte sich nun, daß es trotz wiederholter Versuche nicht möglich war, die Proben je nach ihrem Kohlenoxydgehalt in die richtige Reihenfolge einzustellen. Zugleich zeigte es sich, daß niemals 2 Personen die Proben in die gleiche Reihenfolge stellten. Die Methode muß daher als in hohem Grade subjektiv und jedenfalls für uns unverwendbar angesehen werden, da die ganze Methode darauf beruht, daß man durch das Auge den Farbenunterschied zwischen den verschiedenen Konzentrationen

von Kohlenoxydblut wahrnehmen können muß, um danach den Unterschied durch Zusetzen von Carminlösung zu beseitigen. Da man indessen nicht imstande war, den Unterschied wahrzunehmen, konnte ja gar keine Rede von einer nachträglichen Ausgleichung des Unterschiedes sein.

Eine andere Methode zur Bestimmung der Kohlenoxydsättigung des Blutes ist die von Hartridge angegebene Spektrometermethode, die auf der Tatsache beruht, daß ein Ersetzen von Sauerstoff mit Kohlenoxyd im Hämoglobin eine Verschiebung der Absorptionsbänder nach dem violetten Ende des Spektrums hin bewirkt. Der Umfang dieser Bewegung der Bänder ist ein Maßstab für die vorhandene Kohlenoxydmenge. Hartridges Spektroskop hat 2 Spalten. Sieht man in das Spektroskop, so wird man 2 Spektren wahrnehmen, das eine gerade über dem andern, nur mit dem Unterschied, daß die blaue Zone in dem obersten sich nach rechts in dem Felde befindet, während die blaue Zone in dem unteren links zu sehen ist.

Soll man eine Bestimmung von Kohlenoxydblut vornehmen, so geschieht dies auf folgende Weise: Man stellt das Spektroskop ein und sieht in dasselbe hinein, indem man seine Aufmerksamkeit auf die zwei schmalen Hämoglobinbänder richtet. Durch Bewegen einer Stange, die mit dem Spektroskop verbunden ist, verschiebt man das obere Spektrum in der Weise, daß die zwei Hämoglobinbänder gerade übereinander zu liegen kommen. Ersetzt man nun Oxyhämoglobin mit Kohlenoxydhämoglobin, so werden sich die zwei Bänder nicht mehr übereinander zeigen, sondern das untere Paar Bänder wird zur Seite geschoben sein. Man stellt nun die Bänder gerade übereinander ein, und das Stück, um das das Band sich verschoben hat, wird auf einer Skala abgelesen. Die Größe des Stückes, um das das Band sich verschoben hat, ist der Ausdruck für die Menge Kohlenoxyd, die das Blut enthält. Mit diesem Spektroskop hat Hartridge gute Resultate erreicht. Der Apparat ist aber recht kostspielig und die Methode ist wie die Carminmethode subjektiv, wenn auch in geringerem Maße, da es für die meisten Menschen leichter ist, zwei Bänder gerade übereinander einzustellen, als zwei Farben mit so großer Genauigkeit voneinander zu unterscheiden, wie es die Carminmethode erfordert.

Auf Dr. Kroghs Veranlassung suchte ich nun eine neue und vollständig objektive Methode auszuarbeiten. Das Prinzip, das ich anwende, beruht auf dem von Barcroft angegebenen Verfahren zur Bestimmung der Sauerstoffkapazität des Blutes, indem ich durch eine gesättigte, frisch zubereitete Lösung von Ferridcyankalium Sauerstoff zusammen mit Kohlenoxyd aus dem Blut heraustreibe und darauf das Kohlenoxyd in dem Barcroft-Apparat selbst verbrenne nach der Gleichung $2CO + O_2 = 2CO_2$, wonach die Kohlensäure vollständig absorbiert wird. Man weiß, daß das Kohlenoxyd quantitativ zusammen mit dem Sauerstoff durch Zusetzen von Ferridcyankalium ausgetrieben wird. Der Apparat, der angewendet wird, ist eine Modifikation des von Barcroft angegebenen Differential-Blutgas-Analysenapparates, weshalb es notwendig sein wird, erst den Barcroft-Apparat zu beschreiben, wie er zu Sauerstoffbestimmungen angewendet wird, um später die Veränderungen zu schildern, die vorgenommen werden mußten, um den Apparat zur Bestimmung von Kohlenoxyd zu benutzen.

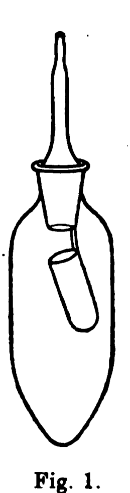


Fig. 1.

Der Apparat ist das von Krogh beschriebene Mikrorespirometer, auf dem zwei von den in Fig. 1 abgebildeten Behältern von 10 bis 15 cm Größe angehängt sind. Hinten ist an dem Manometer eine Holzplatte angeschraubt, auf der in geeigneter Höhe ein Holzklotz so angebracht wird, daß die Behälter vermittels eines breiten Gummibandes an ihm festgebunden werden können. In jeden Behälter bringt man 1 ccm Barcroft Ammoniak (4 ccm starkes Ammoniakwasser für 1 l destilliertes Wasser), samt 3 Glaskugeln, die zugesetzt werden, um die Flüssigkeit in Bewegung zu setzen. Das Blut, dessen Sauerstoffgehalt bestimmt werden soll, wird mit großer Genauigkeit vermittels einer 0,5 ccm fassenden Pipette abgemessen, die so eingerichtet ist, daß sie ganz auf den Boden der Behälter hinuntergeführt werden kann. Man läßt nun das Blut in der Weise in die Behälter niederlaufen, daß es sich wie eine Schicht unter das Ammoniakwasser legt. In den kleinen Behälter, der auf den Pfropfen geblasen ist, bringt man 0,25 ccm von einer gesättigten, frisch zubereiteten Lösung von Ferridcyankalium

und einen kleinen Docht aus Filtrierpapier. In die Kontrollbehälter bringt man auf gleiche Weise 0,5 ccm vollständig sauerstoffgesättigtes Blut. Die Behälter werden nun, nachdem sie mit kohlensäurefreier Luft ausgespült worden sind, mit den respektiven Pfropfen versehen, die im voraus mit Hilfe von dickwandigen Schläuchen in Verbindung mit dem Manometer gesetzt worden sind. Die Behälter werden nun in einem Wasserbad von 17° angebracht. Nach Verlauf von 5 Minuten wird das Manometer geschlossen und abgelesen, worauf man es einige Minuten stehen läßt und dann von neuem abliest. Hat sich das Manometer nicht verschoben, so wird das Blut durch Schütteln der Behälter lackgefärbt. Während des Schüttelns verbleiben die Behälter im Wasserbade, wodurch man Temperaturänderungen vermeidet. Das Schütteln der Behälter geht auf die Weise vor sich, daß vor dem Wasserbade ein beweglicher Rahmen angebracht ist, an dem die Holzplatten, auf denen die Manometer angebracht sind, durch ein paar Metallschnallen festgemacht werden können. Der Rahmen wird vermittels eines Motors und einer Metallfeder hin- und hergezogen. Nach 3 Minuten langem kräftigen Schütteln wird das Manometer abgelesen. Enthält das Blut reduziertes Hämoglobin, so wird das Manometer eine Steigung der Manometersäule in dem Zweige zeigen, der in Verbindung mit dem Behälter ist, der die zu untersuchende Blutprobe enthält. Die Steigung im Manometerzweig ist ein Ausdruck für die Sauerstoffmenge, die das Blut aufgenommen hat. Man schüttelt noch einmal kräftig und liest das Manometer ab. Hat es sich nicht verschoben, so wird die Ferridcyankaliumlösung in das Blut gegossen, und man schüttelt nun kräftig 3 Minuten lang, wodurch aller Sauerstoff ausgetrieben wird, indem das Oxyhämoglobin zu Methämoglobin verwandelt wird. Das Manometer wird abgelesen, worauf man die Behälter noch einmal schüttelt, um sich davon zu überzeugen, daß der Sauerstoff ausgetrieben ist. Es ist von außerordentlich großer Bedeutung, daß die Behälter kräftig geschüttelt werden, da es sonst zu lange Zeit in Anspruch nimmt, den Sauerstoff auszutreiben. Bei langsamem Schütteln riskiert man sogar, daß die letzte Spur von Sauerstoff gar nicht ausgetrieben wird, wie lange man auch die Behälter schüttelt. Ebenso riskiert man bei langsamem Schüt-

teln in Fällen, wo das Blut anämisch oder lipämisch ist, daß es wieder etwas von dem Sauerstoff aufnimmt, den es durch Zusetzen von Ferridcyankalium abgegeben hat, was bewirken wird, daß man eine zu niedrige Sauerstoffzahl enthält. Es ist mit anderen Worten eine absolute Bedingung, daß man kräftig schüttelt, um gute Analysenresultate zu erhalten. Bei der Berechnung der absoluten Sauerstoffmenge, die das Blut aufgenommen hat, wie der Menge, die es infolge des Ferridcyankalium abgegeben hat, wird die von Krogh angegebene Formel benutzt[1]).

Um zu zeigen, mit wie großer Genauigkeit eine Bestimmung ausgeführt werden kann, teile ich folgende Analysen an frisch defibriniertem Ochsenblut mit, das mit Stickstoff im Vakuum so behandelt worden ist, daß alles Oxyhämoglobin zu Hämoglobin reduziert ist.

	1	2	3	4	Mittel
0,5 ccm Blut nimmt auf .	83,0	83,5	82,3	84,8	83,4 cmm Luft
Gibt ab nach Behandlung mit Ferridcyankalium .	76.2	75,5	75,5	75,6	75,7 cmm Luft
				Differenz	7,7 cmm

Wie man aus den Resultaten ersehen kann, besteht ein Unterschied von 7,7 cmm zwischen dem Durchschnittswert der Luftmenge, die das Blut aufgenommen hat, und der Menge, die es wieder abgegeben hat. Dies kommt daher, daß das Blut, das ja im Vakuum behandelt worden ist, physisch Sauerstoff und Stickstoff absorbiert, die bei der Behandlung mit Ferridcyankalium nicht abgegeben werden. Die Menge von physisch absorbiertem Sauerstoff und Stickstoff kann berechnet werden, und man findet, daß 0,5 ccm Blut physisch 8,7 cmm bei dem Schütteln absorbiert hat. Die Sauerstoffaufnahme des Hämoglobins beträgt daher 74,7 cmm, während es mit Ferridcyankalium behandelt 75,7 cmm abgegeben hat.

Der Unterschied zwischen den zwei Zahlen liegt innerhalb der Fehlergrenze für eventuell mögliche Analysenfehler. Oft findet man aber, daß etwas weniger Sauerstoff abgegeben wird

---

[1]) Diese Zeitschr. 66, 512, 1914. Die Entwicklung der Formel findet sich diese Zeitschr. 62, 268, 1914, wo die Formel selbst indessen mit dem Fehler behaftet ist, daß die Temperatur nicht korrigiert ist.

als aufgenommen worden war, und dies kommt ganz sicher daher, daß so gut wie alles Blut Sauerstoff absorbiert, nachdem ihm Ferridcyankalium zugesetzt worden ist. Es ist daher von größter Bedeutung, daß die Bestimmungen so schnell wie möglich gemacht werden, da die Sauerstoffabsorption dabei keine praktische Rolle spielt, indem sie dann auf ein Minimum herabgesetzt wird. Dies wird, wie gesagt, durch kräftiges Schütteln der Behälter erreicht. Wie obenstehende Resultate zeigen, variieren die Sauerstoffkapazität-Bestimmungen untereinander um höchstens 1 %, wohingegen die Zahlen, welche die Menge des reduzierten Hämoglobins angeben, einen Unterschied von höchstens ca. 2 % ausweisen. Aus dem einen oder anderen Grunde variieren diese Zahlen immer mehr als die Zahlen für die Sauerstoffkapazität, bisweilen beläuft sich der Unterschied auf 5 %. Was der Grund hiervon ist, kann nicht mit Sicherheit angegeben werden, aber es hat sich gezeigt, daß man die am meisten übereinstimmenden Resultate erzielt, wenn man steriles Blut anwendet und alle die Geräte sterilisiert, die gebraucht werden, um eine Bestimmung vorzunehmen.

Durch diese Methode ist man also in den Stand versetzt, auf einmal die Menge reduziertes Hämoglobin zu bestimmen, die das Blut enthält sowie die Sauerstoffkapazität des Blutes. Soll der Apparat außerdem zur Bestimmung der prozentualen Kohlenoxydsättigung des Blutes benutzt werden, so ist es notwendig, eine Reihe Veränderungen in verschiedenen Richtungen vorzunehmen. Erstens muß man zur Lackfärbung des Blutes eine andere Base als Ammoniak anwenden, da dieser beim Glühen sich zersetzt. Zweitens muß man besondere Maßregeln treffen, um den Glühdraht, der das Kohlenoxyd zu Kohlensäure verbrennen soll, anzubringen, und drittens muß man dafür sorgen, die Kohlensäure so schnell wie möglich absorbiert zu bekommen. Als Lackfärbungsmittel wende ich hier eine 0,05 %ige Natronlauge an, der eine passende Menge Saponin zugesetzt ist, 1 Messerspitze voll zu 200 ccm. Diese Konzentration von Natronlauge hat sich bei den Versuchen als die beste erwiesen. Die Versuche hierüber wurden auf folgende Weise gemacht: Mit 4 verschiedenen Apparaten machte ich gleichzeitig Bestimmungen der Sauerstoffkapazität einer Blutprobe, indem ich als Lackfärbungsmittel teils Barcrofts Am-

moniak anwandte, teils Natronlauge von 0,05 %, 0,1 % und 0,2 %. Es zeigte sich nun, daß in den Apparaten, in denen ich 0,1- und 0,2 %ige Natronlauge angewandt hatte, nach Zusetzen von Ferridcyankalium eine Sauerstoffaufnahme stattfand, wohingegen dies nicht der Fall war, wo ich Ammoniak oder 0,05 %ige Natronlauge verwandte. Die Versuche wurden mit verschiedenen Blutproben wiederholt und mit verschiedenen Konzentrationen von Natronlauge. Es zeigte sich da, daß Natronlauge von 0,1 % quasi eine Grenze bildete, bis zu welcher man gehen konnte, indem einzelne Blutproben, die mit 0,1 % Natronlauge lackfarbig wurden, nach Zusetzen von Ferridcyankalium Sauerstoff absorbierten, andere taten dies jedoch nicht. Ich hielt es daher für das beste, keine stärkeren Natronlaugen als 0,05 % anzuwenden. In Fällen, wo das Blut nicht ganz frisch ist, wird immer eine Sauerstoffabsorption stattfinden, welches Lackfärbungsmittel man auch anwendet. Aus diesem Grunde ist es notwendig, wenn der Apparat eine längere Zeit hindurch gebraucht wird, alle Behälter, die für die Blutproben benutzt werden, zu sterilisieren und zu Versuchen Blut anzuwenden, das in sterilen Behältern aufbewahrt wird. Das beste Verhältnis, in dem das Blut durch Natronlauge lackgefärbt wird, war, wie sich zeigte, 0,75 ccm Blut zu 2 ccm Natronlauge. Bei geringerer Menge Natronlauge oder größerer Blutmenge wird die Lackfärbung allzu lange dauern. Die andere Maßregel, die getroffen werden mußte, um den Apparat zur Bestimmung von Kohlenoxyd anwenden zu können, war das Anbringen des Verbrennungsmechanismus. Als Verbrennungsdraht wird ein Platindraht gebraucht, 0,1 mm dick, der absolut gleich lang in beiden Behältern sein muß mit Rücksicht auf den Temperaturunterschied, der sonst in den beiden Behältern entstehen könnte. Es zeigten sich große Schwierigkeiten darin, den Platindraht so an bestimmter Stelle anzubringen, daß er leicht ausgewechselt werden konnte. Diese Schwierigkeit wurde durch die Verwendung von Bleiröhren als Verbindungsstücke mit den Zuleitungsdrähten überwunden. Drittens müssen besondere Maßregeln getroffen werden, um die bei der Verbrennung gebildete Kohlensäure absorbiert zu bekommen, da man zur Lackfärbung keine stärkere Natronlauge als 0,05 % anwenden kann. Man bringt daher im Pfropfen ein Stück Filtrierpapier an, das mit

5 %iger Natronlauge angefeuchtet wird; um das Papier anzubringen und um Platz für den Verbrennungsdraht zu erhalten, ist es notwendig, einige Veränderungen an den Kolben selbst vorzunehmen. Wie Fig. 2 zeigt, bestehen die Behälter aus ellipsoidischen Kolben von ca. 20 ccm Größe mit eingeschliffenem Glaspfropfen, der inwendig mit einer verdickten Kante (Fig. 3) versehen ist, auf der das Stück Filtrierpapier ruht. Ferner sind auf den Pfropfen 3 Röhren geblasen, von denen die eine, die mittlere, durch einen dickwandigen Schlauch in Verbindung mit dem Manometer gesetzt wird. Durch die beiden anderen wird die elektrische Leitung zum Glühdraht luftdicht geführt. Als letzte Zuleitungen verwendet man Bleiröhren von 2,5 mm Dicke und mit einer Öffnung von 0,5 mm, die ein wenig unter den Pfropfen hinunterreicht. Die Bleiröhren müssen so angebracht werden, daß sie einander während der Analyse nicht berühren können, was wegen ihrer Biegsamkeit leicht zu erreichen ist. Außerdem haben die Bleiröhren, wie gesagt, den Vorteil, daß der Platindraht, womit sie verbunden werden, sehr leicht anzubringen ist, indem man ganz einfach jedes Ende des Drahtes in die Öffnung der Bleiröhre steckt und mit einer Zange die Bleiröhre so zuklemmt, daß der Platindraht hängen bleibt. Es ist absolut notwendig, dafür zu sorgen, daß der Platindraht gleich lang in beiden Behältern ist, da das Glühen längere Zeit hindurch ununterbrochen fortgesetzt werden soll, indem es sonst zu lange Zeit in Anspruch nimmt, das Kohlenoxyd zu Kohlensäure zu verbrennen. Sind die Platindrähte ungleich lang, so wird bei längerem Glühen in den beiden Behältern ein Temperaturunterschied entstehen, was zur Folge hat, daß die Manometersäule gesprengt und in einen der beiden Behälter geschleudert wird. Dasselbe wird geschehen, wenn man nicht dafür sorgt, möglichst gleiche Kolben

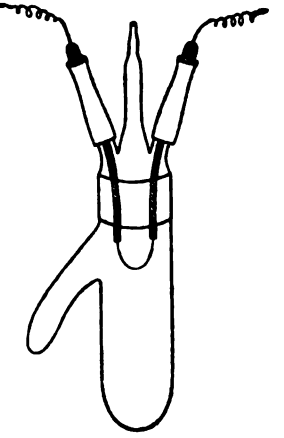


Fig. 2.

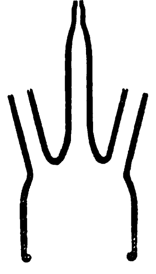


Fig. 3.

zu verwenden. In der Leitung ist ein Ausschalter sowie ein Widerstand zum Regulieren des Stromes angebracht.

An dem Behälter ist eine Seitenröhre für die Ferridcyankaliumlösung angebracht. Um zu vermeiden, daß beim Schütteln Blut in die Seitenröhre oder auf den Platindraht spritzt, müssen die Behälter ziemlich hoch sein, während man diese andererseits auch nicht zu groß machen darf, denn sonst würden die Angaben auf dem Manometer verhältnismäßig zu klein, und der prozentuale Fehler größer werden. Um mit der hier besprochenen Kolbengröße passende Angaben auf dem Manometer zu erhalten, muß 0,5 bis 0,8 ccm Blut angewendet werden.

Für eine Bestimmung der prozentualen Kohlenoxydsättigung des Blutes verwendet man, wie gesagt, ein Manometer und zwei Behälter von ca. 20 ccm, soweit möglich gleich groß und die gleiche Glasmenge enthaltend, sowie mit gleichlangen Platindrähten versehen. Wenn man sich davon überzeugt hat, daß der Apparat dicht ist und, z. B. auch wenn man glüht, seinen Stand nicht ändert, bringt man in jeden Behälter 2 ccm 0,05 $^0/_0$ige Natronlauge und 3 Glaskugeln, die notwendig sind, um die Flüssigkeit in Bewegung zu setzen. In den Kontrollbehälter kommen 0,75 ccm sauerstoffgesättigtes Blut, in den Analysebehälter bringt man 0,75 ccm von dem Kohlenoxydblut, das untersucht werden soll, und sorgt dafür, daß das Blut sich wie eine Schicht unter die Natronlauge legt. In den Behälter, worin sich das Kohlenoxydblut befindet, bringt man vermittels einer gebogenen Pipette in die Seitenröhre eine gesättigte, frisch zubereitete Lösung von Ferridcyankalium. Innen in jedem Pfropfen wird ein Stück Filtrierpapier von passender Breite und einer Länge, die dem inneren Umkreis des Glases entspricht, angebracht. Nach dem Befestigen des Papieres wird dieses mit 5 $^0/_0$iger Natronlauge angefeuchtet. Nachdem die Behälter mit dem Manometer in Verbindung gesetzt worden sind, wobei man vorsichtig zu Werke gehen muß, so daß das Blut nicht lackgefärbt wird, werden diese mit einem breiten Gummiband an das Manometer festgespannt. Es wird am besten so eingerichtet, daß die Pfropfen immer an dem Manometer hängen bleiben. Die Behälter werden nun in einem Wasserbad mit einer Temperatur von 17^0 angebracht, das im voraus gut vermischt ist, so daß die Temperatur überall gleich

ist. Nach 5 Minuten wird das Manometer geschlossen und abgelesen, worauf man es einige Minuten stehen läßt und dann von neuem abliest. Hat sich das Manometer nicht verschoben, so wird das Blut durch Schütteln lackgefärbt. Die Lackfärbung mit Natronlauge nimmt mehr Zeit in Anspruch als Lackfärbung mit Barcrofts Ammoniak, in der Regel ca. 5 Minuten. Nach vollständiger Lackfärbung wird das Manometer abgelesen, worauf man die Behälter von neuem schüttelt, um sich davon zu überzeugen, daß das Blut all den Sauerstoff absorbiert hat, den es absorbieren kann. Die Veränderung des Manometers bei der Lackfärbung ist ein Ausdruck für die Menge reduzierten Hämoglobins, die das Blut enthielt. Ferridcyankalium wird in das Blut gegossen, indem man den Apparat schräg stellt Hierbei muß man dafür sorgen, daß der Platindraht nicht das Blut berührt und daß kein Blut in die Pfropfen läuft und in Verbindung mit der 5%igen Natronlauge kommt. Nachdem die Ferridcyankaliumlösung in das Blut gegossen ist, werden die Behälter wieder in dem Wasserbade angebracht, und nun wird kräftig geschüttelt, bis aller Sauerstoff und alles Kohlenoxyd aus dem Blute herausgetrieben ist. Hierbei muß man indessen beachten, daß es viel länger dauert, das Kohlenoxyd als Sauerstoff auszutreiben. Selbst bei starkem Schütteln wird es 15 bis 20 Minuten dauern, bis der letzte Rest von Kohlenoxyd ausgetrieben ist. Hierbei läuft man das Risiko, daß das Blut Gelegenheit bekommt, Sauerstoff zu absorbieren, mit der Folge, daß man zu hohe Werte für das Kohlenoxyd erhält. Es wird darum notwendig sein, daß man nach ca. 15 Minuten das Schütteln unterbricht und das Manometer abliest, wonach man die Behälter wieder einige Minuten schüttelt und das Manometer von neuem abliest. Auf diese Weise sieht man sich imstande zu kontrollieren, ob eine Sauerstoffabsorption stattfindet, und in diesem Falle, wann diese beginnt. Beginnt das Blut, Sauerstoff zu absorbieren, so hört man auf zu schütteln und liest das Manometer ab, indem man die Angabe gelten läßt, die das Manometer machte, bevor die Sauerstoffabsorption stattfand. Man schaltet nun den elektrischen Strom ein und glüht im Anfang schwach, dann bis zu starker Rotglut. Nach Verlauf von 5 Minuten wird das Glühen unterbrochen, worauf man die Behälter einige Minuten stehen läßt, um die Temperatur zu messen und damit

gleichzeitig die letzte Spur der bei der Verbrennung gebildeten Kohlensäure absorbiert werden kann. Das Manometer wird abgelesen, worauf man wieder einige Minuten glüht, um sich davon zu überzeugen, daß die Verbrennung fertig ist. Verschiebt sich das Manometer trotz wiederholten Glühens nicht, so ist die Analyse fertig, und die Inhaltsverminderung, die durch das Glühen stattgefunden hat, ist ein Ausdruck für die Kohlenoxydmenge, die das Blut enthielt. Es ist ein Vorteil, beim Glühen die Behälter zu schütteln, da die Kohlensäure dadurch schneller absorbiert wird. Gleichzeitig werden die Behälter sich durch das Schütteln schneller abkühlen und die Dauer der Analyse kürzer. Die prozentuale Kohlenoxydsättigung des Blutes wird nun auf die Weise ausgerechnet, daß die Zahl, welche die Menge des ausgetriebenen Sauerstoffes und Kohlenoxyds angibt, mit $^3/_2$ multipliziert wird. Die hierdurch erhaltene Zahl wird, dividiert durch diejenige Zahl, welche die Inhaltsverminderung bei der Verbrennung angibt, das Resultat für die prozentuale Kohlenoxydsättigung des Blutes ergeben. In untenstehendem Kontrollversuch, der beigefügt worden ist, um die Genauigkeit der Methode zu zeigen, ist es indessen notwendig, eine Korrektur vorzunehmen, bevor man die Vergleichung, wie oben erwähnt, ausführt. Die Blutproben sind nämlich auf die Weise hergestellt, wie es bei der Carminmethode beschrieben ist, so, daß die Blutproben eine größere Kohlenoxydmenge als berechnet enthalten werden, indem das Blut durch die Sättigung mit dem $10^0/_0$ igen Kohlenoxyd etwas von diesem physisch absorbiert. Wenn man nun die verschiedenen Blutgemische von 10, 20, 20, $40^0/_0$ Kohlenoxydhämoglobin herstellt, wird das physisch absorbierte Kohlenoxyd sich mit dem Hämoglobin des sauerstoffhaltigen Blutes verbinden, wodurch die Blutproben nicht die berechneten 10, 20, 30, $40^0/_0$ Kohlenoxydhämoglobin enthalten werden, sondern beziehungsweise 10, 15, 20,3, 30,5, 40,65. Der Absorptionskoeffizient des Kohlenoxyds ist mit 0,0024 in Rechnung gebracht Um zu zeigen, wie eine Analyse verläuft, habe ich bei dem ersten Kontrollversuch alle Ablesungen niedergeschrieben, bei den folgenden nur die Schlußresultate.

Serie I. 10 % Kohlenoxydsättigung.

Zeit	Nr. 1 Manometerablesungen links mm	Nr. 1 Manometerablesungen rechts mm		Nr. 2 Manometerablesungen links mm	Nr. 2 Manometerablesungen rechts mm	
12^{00}	110,0	109,1	Das Blut wird lackfarbig gemacht.	108,3	109,8	
12^{05}	109,2	109,9		108,3	109,8	
			Zusatz von Ferridcyankalium.			
12^{20}	157,9	62,9		71,4	146,0	
12^{22}	158,5	62,2		70,8	147,6	
12^{25}	159,6	61,1		70,3	147,0	
12^{27}	159,7	61,0	Manometrische Differenz $99,4 \cdot \frac{3}{2} =$ 149,1.	70,2	147,0	$75,2 \cdot \frac{3}{2} = 112,8$
			Verbrennung von Kohlenoxyd.			
12^{32}	154,5	66,0		75,2	141,8	
12^{34}	153,0	67,2		75,8	141,2	
12^{36}	152,2	68,2		76,4	140,5	
12^{38}	152,1	68,1	Manometrische Differenz 14,9.	76,3	140,4	12,7

Prozentische Kohlenoxydsättigung $\frac{14,9}{149,1} = 10,0\,\%$, $\frac{12,7}{112,8} = 11,2\,\%$

	Nr. 1	2	3	4	Mittel
Kohlenoxydsättigung gefunden	10,0	11,2	11,4	10,0	10,65 %
berechnet					10,15 %
				Differenz	0,5 %

Serie II. 20 % Kohlenoxydsättigung.

Kohlenoxydsättigung gefunden	20,45	21,55	21,7	20,15	20,95 %
berechnet					20,3 %
				Differenz	0,65 %

Serie III. 30 % Kohlenoxydsättigung.

Kohlenoxydsättigung gefunden	31,5	30,4	29,5	31,5	30,75 %
berechnet					30,5 %
				Differenz	0,25 %

Serie IV. 40 % Kohlenoxydsättigung.

Kohlenoxydsättigung gefunden	40,0	41,4	41,95	41,65	41,25 %
berechnet					40,65 %
				Differenz	0,6 %

Wie aus den Resultaten hervorgeht, liegt der Durchschnittswert für alle Resultate ca. $^1/_2\,^0/_0$ zu hoch, was darauf hindeutet, daß ein systematischer Fehler in der Analyse ist. Dies beruht ganz sicher darauf, daß das Blut bei dem langwierigen Austreiben des Kohlenoxyds Gelegenheit bekommt, etwas Sauerstoff zu absorbieren. Man kann diesen Fehler eventuell korrigieren, indem man $^1/_2\,^0/_0$ von dem Analysenresultat abzieht. Der zufällige Fehler der einzelnen Analysen ist, wie die Kontrollversuche zeigen, ungefähr $\pm 1\,^0/_0$. Größere Genauigkeit kann, wie auch bei der Sauerstoffbestimmung, aus dem einen oder anderen Grunde nicht erreicht werden.

Zum Schluß möchte ich Herrn Dr. Krogh meinen Dank für die Hilfe aussprechen, die er mir auf verschiedene Weise bei dieser Arbeit geleistet hat.

Zur Kenntnis der Formaldehyd-Schwefelsäure-Reaktion.

Von

Ernst Sieburg.

(Aus dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie der Universität zu Rostock.)

(Eingegangen am 15. März 1916.)

Das D. A. B. V. gibt für Tannoform — Methylenditannin — „ein durch Einwirkung von Formaldehyd auf Tannin gewonnenes Präparat" als Identitätsreaktion die Färbung an, die beim Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure entsteht, die von Gelbbraun in Grün und schließlich in Blau übergeht. Gießt man die so gefärbte Schwefelsäure in Alkohol, so entsteht eine indigoblaue Färbung, die in kurzer Zeit über Violett in Rot umschlägt.

Dieselbe Farbenreaktion erhält man mit Tannin oder Gallussäure auf folgende Weise. Bringt man in einen Kubikzentimeter Essigsäureanhydrid eine Spur Tannin, so bleibt dies in der Flüssigkeit suspendiert. Augenblicklich tritt Lösung ein, wenn ein Tropfen Formaldehyd hinzugegeben wird. Verdunstet man jetzt diese Lösung auf dem Wasserbade und nimmt den Trockenrückstand mit Schwefelsäure auf, so treten die oben erwähnten Farbenerscheinungen ein.

Um zu erfahren, welche Konfiguration im Gallussäuremolekül die Färbung mit Essigsäureanhydrid — Schwefelsäure — Formaldehyd veranlaßt, wurde die Gallussäure durch ihre Muttersubstanzen und Verwandten: Phenole, Phenoläther und Phenolcarbonsäuren ersetzt und mit den letztgenannten Substanzen in der angegebenen Weise in Reaktion gebracht. Es stellte sich heraus, daß, um Färbungen zu bekommen, der Zusatz von Essigsäureanhydrid bei einem großen Teil der geprüften

Substanzen nicht notwendig ist, daß hierdurch die durch Formaldehyd — Schwefelsäure allein hervorgerufenen Färbungen nicht modifiziert werden.

Der Erfinder der Formaldehyd-Schwefelsäure als Reagens, E. Marquis[1]), benutzte dasselbe zum Nachweis von Morphin und Codein und gibt an, daß die mit beiden Stoffen entstehende rotviolette Farbe für Morphin und Codein charakteristisch ist. Dies ist nicht ganz richtig; um nur ein Beispiel herauszugreifen: Tyrosin gibt eine nicht zu unterscheidende Färbung.

Wir wissen jetzt[2]), daß der Formaldehyd ganz allgemein mit Phenolen — ebenso reagieren deren Methoxylderivate — bei Gegenwart von konzentrierter Schwefelsäure farbige Produkte liefert. Die Farbennüancen sind recht verschieden und wechseln oft schon bei derselben Substanz je nach Temperatur und Reaktionszeitdauer.

Was die Art der entstehenden Farbkörper angeht, so dürfte es sich um Diarylmethanabkömmlinge handeln bzw. um Hydroxyl- oder Methoxylderivate des Diphenylcarbinols. Diphenyl- oder Triphenylmethan, ihre Homologe und Carbinole, sind als solche farblos, färben aber beim Eintragen in konzentrierte Schwefelsäure. Darauf gründet v. Bayer die bekannte Ansicht, daß einmal die Schwefelsäure bei derartigen Reaktionen oxydierend wirke und die Bildung von Carbinol veranlasse, und daß weiter die Färbungen Halochromieerscheinungen sind, d. h. daß hier die Hydroxylgruppen als schwach basisch mit der Säure unter Salzbildung reagieren[3]).

Nicht alle oxyaromatischen Substanzen geben mit dem Formaldehyd-Schwefelsäure-Reagens reine oder überhaupt Färbungen. Vielfach sind dies Körper, deren para-Stellung zum Hydroxyl oder Methoxyl irgendwie besetzt ist, beispielsweise Hydrochinon, p-Oxybenzoesäure, Anissäure, Gallussäure. Durch gleichzeitiges Behandeln mit Essigsäureanhydrid und Formaldehyd, wie oben angeführt, geben diese Verbindungen dann recht schöne und reine Farbenreaktionen.

---

[1]) E. Marquis, in: Arb. d. Pharmakol. Inst. zu Dorpat, herausgegeben von R. Kobert, **14**, S. 131, Stuttgart 1896.

[2]) Endemann, nach Zeitschr. f. anal. Chem. **40**, 667, 1901.

[3]) Die Richtigkeit dieser Auffassung wird ganz neuerdings bestritten; vgl. Nölting und Kempf, Chem. Ztg. **40**, 203, 1916.

Marquis gibt bereits an, daß man statt freien Formaldehyds auch chemisch gebundenen in Form von Methylal, Hexamethylentetramin, Oxymethylsulfonsäure, Tri- oder Hexaoxymethylen in Kombination mit Schwefelsäure als Morphinreagens benutzen kann. Auch die im Benzolkern substituierte Formylgruppe oder ätherartig gebundenes Methylen, z. B. im Piperonal, oder in dem oxydativen Spaltungsprodukt des Hydrastins, im Hydrastinin (das keine Hydroxyle oder Methoxyle enthält!) gibt als Zusatz zur Schwefelsäure mit Phenolen schöne Färbungen:

Piperonal-Schwefelsäure und	Resorcin:	blutrot,
„ „ „	Guajacol:	scharlachrot,
„ „ „	Tannin:	grün-blau,
„ „ „	Morphin:	violett,
Hydrastinin-Schwefelsäure und	Guajacol:	kirschrot,
„ „ „	Thymol:	blutrot,
„ „ „	Gallussäure:	grün-blau,
„ „ „	Morphin:	langsam violett.

Verwendet man als Aldehydkomponente Piperonal oder Vanillin zu derartigen Reaktionen, so ist es oft von Vorteil, statt der Schwefelsäure, die allein schon vielfach dunkel färbt, konzentrierte Salzsäure zu benutzen.

Von ihrer Konstitution nach hinlänglich bekannten Alkaloiden geben einige, wie Berberin, Hydrastin und die Isochinolinabkömmlinge im Opium: Narkotin, Narcein, Papaverin, mit Schwefelsäure allein schon Färbungen. In diesen Substanzen ist von dem System: Aldehyd-Schwefelsäure-Phenol der Aldehydcharakter in Form einer Oxymethylengruppe, der Phenolcharakter in Form mehrerer Methoxyle enthalten. Im Papaverin vermittelt die CH_2-Gruppe die Bindung zwischen dem Isochinolinskelett und dem Brenzkatechinrest; hier bleibt auch eine Färbung mit Schwefelsäure aus[1]).

Auch Phenole oder deren Äther mit einer ungesättigten Seitenkette lösen sich in Schwefelsäure unter Farbenerscheinungen. Beispiel:

---

[1]) Die früher dem Papaverin zugeschriebene Violettfärbung mit Schwefelsäure beruht nach Pictet und Kramers (Ber. 43, 1329, 1910) auf Verunreinigung mit Kryptopin.

$$C_6H_4 \begin{matrix} \diagup CH = CH - CH_3 \ (1) \\ \diagdown OCH_3 \ (4) \end{matrix}$$
Anethol

$$C_6H_3 \begin{matrix} \diagup CH_2 - CH = CH_2 \ (1) \\ - OCH_3 \ (3) \\ \diagdown OH \ (4) \end{matrix}$$
Eugenol

Wir wissen, daß sich solche ungesättigten Seitenketten sehr leicht zu Aldehydgruppen oxydieren lassen. Daß dies auch unter dem Einfluß der Schwefelsäure möglich ist, zeigt das Verhalten des Anethols. Das blutrote Reaktionsgemisch aus Anethol und Schwefelsäure entfärbt sich beim Eingießen in Wasser unter Bildung von Anisoin:

$$\begin{matrix} CH_3O - C_6H_4 - CO \\ | \\ CH_3O - C_6H_4 - CH\,(OH). \end{matrix}$$

Derartige Ketonalkoholabkömmlinge des Dibenzyls erhält man für gewöhnlich durch Kondensation zweier Moleküle aromatischer Aldehyde.

Es ist hiernach nicht unwahrscheinlich, daß die bekannte Liebermann-Burchhardsche Cholesterinprobe auf der Wechselwirkung des aus der in einer Seitenkette befindlichen Vinylgruppe entstehenden Aldehyds mit der im hydrierten Benzolkern stehenden Hydroxylgruppe beruht. Denn mit Aufhebung der olefinischen Bindung verliert das Cholesterin auch diese seine Farbenreaktion, und weiter wird uns verständlich, warum es letztere mit manchen Terpenalkoholen teilt.

Ähnlich wie Formaldehyd reagiert in Kombination mit Schwefelsäure Furfurol mit Phenolen unter Bildung gefärbter Produkte. Doch ist hier die Reaktion keine so allgemeine. D. Schenk und H. Burmeister[1]) weisen darauf hin, daß beim gewöhnlichen Phenol der Eintritt einer freien oder veresterten Carboxylgruppe genügt, um die Reaktion aufzuheben, und daß von den drei Dioxybenzolen die p-Verbindung nur ganz schwach reagiert.

Es werden bei Glukosiden öfter Farbenreaktionen, etwa mit Thymol — Schwefelsäure oder Naphthol — Schwefelsäure, als spezifisch für einen bestimmten Körper angegeben. Sie besagen aber nur, daß ein Glukosid vorliegt, aus dessen Kohlehydratkomponente die Säure Spuren von Furfurol freimacht, das dann mit dem Phenol unter Farbenerscheinungen reagiert.

---

[1]) D. Schenk und H. Burmeister, Chem.-Ztg. 39, 465, 1915.

Andere Glukoside, z. B. viele Glieder aus der Gruppe der Saponinsubstanzen, färben sich mit Schwefelsäure allein rot bis violett. Hier ist vielleicht die Ansicht zulässig, daß das aus der Zuckerkomponente stammende Furfurol mit dem, Hydroxyle oder Methoxyle enthaltenden, Aglukon sich kondensiert. Geben die Aglukone, durch Hydrolyse von den Kohlenhydraten völlig befreit, auch jetzt noch mit Schwefelsäure Färbungen, so können, wie etwa im Cholesterin, Hydroxylgruppen und ungesättigte Seitenketten vorliegen.

Von der ungemein vielseitigen Reaktionsfähigkeit der Aldehyde machen wir im Laboratorium ausgiebigen Gebrauch. Daß in der Pflanzenphysiologie Aldehyde eine bedeutsame Rolle spielen, ist sicher. Inwieweit die Pflanze sie zu Synthesen, etwa von Alkaloiden, heranzieht, können wir vorläufig nur ahnen.

Über das Verhalten des Zellkernes zu verschiedenen Giften.

Von

Oscar Loew.

(Eingegangen am 16. März 1916.)

Die Beobachtungen über Giftwirkungen an größeren Organismen können mitunter durch Beobachtungen an der einzelnen Zelle vervollständigt werden. Hierzu eignen sich natürlich nur solche Organismen, deren Zellen nicht zu klein sind und deren Inhalt leicht übersehen werden kann. Auch muß der Zellkern oder Nucleus so gestaltet sein, daß schon sehr geringe schädigende Wirkungen deutlich in die Erscheinung treten. Diesen Anforderungen entspricht am ehesten die Algengattung Spirogyra, deren lange grüne Fäden allenthalben in stehenden Gewässern vorkommen.

Der Chloroplast bei Spirogyra besitzt eine weit kompliziertere Form als die Chloroplasten der höherstehenden Pflanzen, und es lassen sich an den lappigen Rändern des schönen grünen Chlorophyllbandes die geringsten schädlichen Einflüsse durch eine beginnende Einziehung der Lappen erkennen. Ferner bemerkt man bei den größeren Arten bei 700facher Vergrößerung eine Plasmaströmung, die schon leichte schädliche Eingriffe durch ihre Sistierung erkennen läßt.

Der zentral gelegene Zellkern heftet sich mit seinen Ausläufern (Plasmasträngen) an die Chlorophyllbänder an, die einzeln oder zu mehreren in Form einer Schraubenlinie in der dünnen wandständigen Cytoplasmaschicht liegen. Der Kern hat bei manchen Arten eine eckige Gestalt, bei anderen die einer flachen bikonvexen Linse. Oft sind die Chlorophyllbänder so dicht gewunden, daß der Kern nur unvollständig zu sehen ist, aber es gibt Arten, bei denen der Kern mit seinen Plasma-

strängen gewöhnlich sehr klar vor Augen tritt. Der Nucleus oder Zellkern bei Spirogyra besitzt einen relativ großen Nucleolus, dessen chemische Natur nach Tröndle[1]) mit dem Chromatin, einer Art von Nucleoprotein, übereinstimmt und der demnach verschieden von dem Nucleolus der höheren Pflanzen ist. Carnoy nennt den Nucleolus von Spirogyra einen „Kern im Kerne".

Während bei einem runden Nucleus eine Contraction beim Absterben nur durch sehr genaue Messung festgestellt werden kann, verrät sich beim Zellkern der Spirogyra schon eine geringe schädigende Einwirkung gewöhnlich durch die Tendenz, die Kugelform anzunehmen. Der flache linsenförmige Zellkern bei Spirogyra majuscula wird zunächst in der Mitte breiter, er quillt zentral auf, während die große Achse der Linse sich allmählich verkürzt. Schreitet jener Vorgang weiter fort, so reißen oft die Plasmastränge auf der einen Seite ab, und der jetzt zur Kugel gewordene Zellkern fällt im Absterben aus seiner zentralen Aufhängung zur Seite. Oft aber bleibt die entstandene Kugel noch in der Mitte hängen, nämlich wenn die Plasmastränge erst nach der Dehnung erhärten. Manchmal aber haben die Stränge ihre Dehnbarkeit schon verloren und reißen auch nicht ab. Dann zieht die sich verkürzende große Linsenachse die Plasmastränge samt dem Cytoplasma und Chloroplast nach sich, und das Resultat ist eine Einschnürung des Cytoplasmas mit den Chloroplasten, an der Hauptanheftstelle der Plasmastränge. Der zur Kugel gewordene Kern wird mehr oder weniger trübe. Die entstehende Kugel ist verschieden groß, je nachdem der Wasserverlust bei dem Eingriff eines Giftes größer oder geringer ist. Dieser Vorgang des Absterbens sei der Kürze halber einfach bezeichnet als kugelige Contraction.

Es kommt aber eine wesentlich verschiedene Erscheinung beim Absterben des Zellkerns vor, nämlich dann, wenn durch die einwirkende schädliche Substanz die Plasmastränge samt ihren Anheftungsstellen sehr rasch erhärten und eine solche Festigkeit annehmen, so daß sie nicht abreißen können und also auch eine Änderung der Linsenform des Kerns zur Kugel-

[1]) Zeitschr. für Botanik, 1912, 743.

form nicht mehr möglich ist und auch keine Einschnürung des Cytoplasmas erfolgt. Dann kann die Contraction beim Absterben nur seitlich auf die Ebene der großen Linsenachse erfolgen; aus der Linse wird dann eine dünne Scheibe von unregelmäßiger Oberfläche, die sich unter dem Mikroskop als ein Faden mit unregelmäßigem Umriß darstellt, wegen ihrer senkrechten Stellung. Eine solche Art der Contraction ist spezifisch für manche und wenige Giftwirkungen und besonders charakteristisch für die Giftwirkung der kalkfällenden Salze, oxalsaures Kali und Fluornatrium, worauf ich schon früher hingewiesen habe[1]). Diese Art der Contraction sei der Kürze halber bezeichnet als seitliche Contraction.

Es kommt aber noch ein weiterer Fall vor, daß nämlich gar keine Contraction eintritt und sowohl Plasmastränge wie Nucleus blitzschnell absterben und erhärten. Kern und Plasmastränge sowie Chloroplast und Cytoplasma sind bei so rascher Tötung noch gelagert wie im Leben; das ist die Fixierung, wofür das bekannteste Beispiel die Behandlung mit Überosmiumsäure liefert.

Wenn bei langsam fortschreitender Giftwirkung zunächst der Kern getötet ist, kann die Zelle noch ihren vollen Turgordruck besitzen, der besonders dann leicht wahrgenommen werden kann, wenn eine lebende Zelle des Spirogyrafadens zwischen zwei bereits abgestorbenen Zellen sich befindet, weil dann der Turgordruck die ebenen Querwände halbkugelig hinauswölbt in die toten Zellen hinein. In Fällen, in denen Zweifel über den Tod des Cytoplasmas bestehen, wenn nämlich das Cytoplasma nicht deutlich contrahiert ist, führt die Behandlung mit einer 5- bis 10 %igen Salpeter- resp. Zuckerlösung zum Ziel; nur Zellen mit lebendem Cytoplasma erleiden dann die Plasmolyse. Gewöhnlich erkennt man aber schon an der Lage und Form des Chlorophyllbandes, ob die Schädigung weiter fortgeschritten ist. Zunächst findet durch Einziehen der Lappen am Rande ein Schmälerwerden des Bandes statt, dann folgt eine Contraction der Schraubenform, wobei die Bänder öfters in mehrere Stücke zerreißen, welche Störungen auch das Cyto-

---

[1]) Diese Zeitschr. **88**, 231; Flora **105**, 447. Ferner Reichsmedizinal-Anzeiger 1915, **Nr. 16**.

plasma töten, das sich mehr oder weniger durch Contraction von der Cellulosewand ablöst und zurückzieht. Die nun eingetretene totale Unordnung in den Zellen läßt auch den Nichteingeweihten über den Untergang des Lebens keinen Zweifel mehr. — Das langsame Absterben einer solchen Zelle bildet ein eindrucksvolles Phänomen für jeden Beobachter, der die postmortalen Veränderungen, wie z. B. Schwellung des Kerns durch starke Essigsäure, wohl zu unterscheiden weiß von denjenigen Vorgängen, die das allmähliche Erlöschen des Lebens charakterisieren.

Am besten eignet sich für die hier angedeuteten Beobachtungen Spirogyra majuscula mit ihrem linsenförmigen Kern, der in fast jeder Zelle sehr schön sichtbar ist. Die hier beschriebenen Beobachtungen sind an dieser Art angestellt.

Was nun die Contraction der zu folgenden Versuchen dienenden Salze betrifft, so erschien eine solche von 2 % etwas zu hoch, weil dieselbe auch durch manche sonst harmlose Salze osmotische Störungen in den Zellen veranlassen kann. Trotzdem wurden auch mehrmals bei solchen Konzentrationen Vergleiche angestellt, weil jene osmotischen Störungen meist langsamer ablaufen, als viele Giftwirkungen. Die Algenfäden wurden beim Herausnehmen aus dem Kulturwasser zunächst mit reinstem destilliertem Wasser[1]) abgespült, in die Lösungen eingelegt und dann in kurzen Zwischenräumen einige Fäden herausgenommen und unter dem Mikroskop bei 400facher Vergrößerung, öfters auch bei 700facher, betrachtet. Bei 0,5 % Konzentration wurden je 10 ccm der Lösung verwendet, bei höheren Verdünnungen aber 50 bis 100 ccm. Es macht einen sehr großen Unterschied im Resultat aus, welches Volumen eines Salzes von bestimmter Konzentration auf die Zellen einwirkt. Nur bei konzentrierten Lösungen reicht das Betupfen unter dem Mikroskop hin.

1. Wirkung kalkfällender Salze.

Zu den kalkfällenden Salzen, die noch nicht in ihrer Wirkung auf den Kern von Spirogyra beobachtet wurden, gehören pyrophosphorsaures und metaphosphorsaures Natron. Die auf-

[1]) Bei der so empfindlichen Gattung Spirogyra ist es nötig, stets nur aus Glasgefäßen destilliertes Wasser zu verwenden.

fallende Giftwirkung dieser Säuren harrt noch der Aufklärung. Nach Gamgee, Priestley und Larmonth wirken diese Säuren in Form neutraler Salze auf Wirbeltiere bei subcutaner Injektion lähmend auf das vasomotorische und Atmungszentrum; auch fettige Degeneration des Herzmuskels, der Niere und Leber wurde beobachtet. — Auch manche sonst harmlose Salze, die Kalk erst bei stärkerer Konzentration ausfällen, blieben noch zu vergleichen übrig.

Konzentration 0,5%; Dikaliumoxalat: Nach 6 Minuten sämtliche Zellkerne in seitlicher Contraction[1]. — Natriumfluorid: ebenso. — Tetra-Natriumpyrophosphat: ebenso. — Natrium-Metaphosphat: ebenso. — In allen diesen Fällen war innerhalb 6 Minuten noch keine andere Störung sichtbar, als diese seitliche Kerncontraction, jedoch bald darauf fingen die Chlorophyllbänder an, schmäler zu werden und abzusterben. Erst später wurde das Cytoplasma angegriffen, wahrscheinlich sekundär infolge der eingetretenen Störungen. — Dikaliumorthophosphat: Nach 6 Minuten keine Veränderung, nach 30 Minuten in etwa 10% der Zellen der Kern in seitlicher Contraction, nach 3 Tagen fast alle Zellen abgestorben. — Dikaliumcarbonat: Nach 6 Minuten eine kleine Anzahl von Zellkernen in seitlicher Contraction, nach 15 Minuten etwa ein Drittel, nach 25 Minuten mehr als die Hälfte der Zellkerne. Nach 1 Stunde die meisten Zellen abgestorben, oft unter starker Trübung. — Trikaliumcitrat: nach 10 Minuten keine Schädigung, nach 20 Minuten ein Teil der Zellen, nach 1 Stunde die meisten Zellen tot. Wo die Kerne noch sichtbar, da zeigen sie die seitliche Contraction. — Dikaliumtartrat: alle Zellen normal nach 3 Stunden. Diese letzten beiden Salze ergaben: bei einer Contraction von 2% in 20 Minuten dasselbe Resultat wie eine 1%ige Dikaliumoxalatlösung in 3 Minuten, daß nämlich die meisten der vorhandenen Zellkerne seitlich contrahiert waren.

Dikaliumsulfat. Nach 10 Tagen die meisten Zellen noch normal. Wo bei abgestorbenen Zellen der Kern noch deutlich sichtbar ist, da liegt er als rundliche Masse an der Seite, nir-

[1] Bei diesen Vergleichen machte es keinen wesentlichen Unterschied, ob man äquivalente oder gleiche Gewichtsmengen zur Einwirkung brachte.

gends ist eine seitliche Contraction des Kernes eingetreten. — Borax: Nach 60 Minuten nur wenige Zellkerne angegriffen; nirgends seitliche Contraction, die meisten Zellen völlig intakt. Beim Vergleich der vollständig neutralisierten Säuren mit entsprechenden sauren Salzen ergab sich ein auffallender Unterschied. In derselben Zeit, in der Trikaliumcitrat die Zellen bedeutend geschädigt hatte, ergab sich bei Monokaliumcitrat noch keine schädliche Einwirkung. Ähnliche Unterschiede ergaben sich beim Vergleich des Dikaliumphosphats mit dem Monokaliumphosphat. Die langsam eintretende schädliche Wirkung der sauren Salze besteht ferner nicht in der seitlichen Contraction, sondern in der kugeligen.

Konzentration von 0,1°/₀. Dikaliumoxalat: nach 30 Minuten die Zellen noch intakt, nach 3 Stunden eine mäßige Anzahl der Zellkerne angegriffen, aber nicht mehr in seitlicher Contraction, sondern in kugeliger Contraction begriffen[1]. Natriumfluorid: Wirkung die gleiche, nur etwas langsamer. — Tetranatriumpyrophosphat: nach 30 Minuten sämtliche Zellkerne in seitlicher Contraction[2]. — Natriummetaphosphat: ganz ähnlich. — Dikaliumorthophosphat: Nach 3 Tagen alle Zellen intakt, sogar die Plasmaströmung ist noch zu sehen. — Dikaliumcarbonat: nach 4 Tagen die meisten Zellen noch am Leben, wenn auch öfters der Kern zentral schwach geschwollen erscheint. Dikaliumtartrat und Trikaliumcitrat: nach 3 Tagen alle Zellen gesund.

Konzentration von 0,01°/₀. Nach 2 Tagen nur bei Natriummetaphosphat einige Zellen geschädigt, die anderen Salze übten keinen schädlichen Einfluß mehr aus in dieser Zeit.

2. Giftwirkung freier Säuren.

Oxalsäure 1°/₀. Sofortige Abrundung des linsenförmigen Nucleus zur Kugel, nirgends seitliche Contraction. Nucleus sehr trübe, so daß Nucleolus kaum mehr erkennbar. — Oxal-

---

[1] Bei einem Vergleich der Wirkung von 10 ccm mit 100 ccm dieser Lösung ergab sich eine beträchtliche Verlangsamung im ersteren Fall. Spuren gespeicherter Kalksalze können mit dazu beigetragen haben. Selbst nach 2 Tagen sind noch lebende Zellen in beiden Proben vorhanden.

[2] Auffallend rasch wurde hier auch das Chloroplast angegriffen und in mehrere sich etwas abrundende Stücke zerrissen.

säure 0,1 %: in 10 Minuten das gleiche Bild, außerdem aber der Kern oft noch von einer gequollenen Haut umgeben. — Oxalsäure 0,01 % (100 ccm); die meisten Zellen tot nach 1 Stunde, Kerne zur Kugel contrahiert. — Oxalsäure 0,001 % (100 ccm). Nach 1 Stunde der Kern in manchen Zellen schon in Abrundung zur Kugel begriffen. Nach 2 Tagen nur etwa 8 % der Zellen noch am Leben, aber teilweise der Kern dieser Zellen aus seiner zentralen Lage geraten und mäßig contrahiert. In den abgestorbenen Zellen kann wegen starker Plasmacontraction der Kern nicht mehr erkannt werden. Der Chloroplast meist ausgebleicht. — Oxalsäure 0,0001 % (100 ccm). Nach 2 Tagen alle Zellen noch gesund. Nach 2 weiteren Tagen die Zellen mit Kern scheinbar noch gar nicht angegriffen, aber es ist doch eine auffallende Trübung im Zellsaft vorhanden, die bei 800 facher Vergrößerung sich als runde, in lebhafter Brownscher Molekularbewegung befindliche kugelige Partikeln erkennen ließ; diese Mikrosomen lösten sich langsam beim Behandeln mit verdünnter Essigsäure.

Traubensäure wirkt bei 0,02 % fast ebenso rasch wie Oxalsäure von 0,01 % und in derselben Weise, aber bei weiterer Verdünnung erheblich langsamer. Bei 0,002 % (100 ccm) ist nach 2 Tagen noch gut ein Drittel der vorhandenen Zellen am Leben und der Zellkern derselben nur ausnahmsweise angegriffen und hier und da das Cytoplasma in der Mitte etwas eingeschnürt infolge der sich etwas verkürzenden Plasmastränge. — Traubensäure von 0,0002 % (100 ccm) nach 4 Tagen alle Zellen unverändert, sogar die Plasmaströmung ist noch vorhanden.

Essigsäure 1 %. Zellkern sofort zur Kugel contrahiert, nur hier und da die Plasmastränge nicht abgerissen, und in solchen Fällen ist seitliche Contraction des Kernes eingetreten. Die Zellen machen im übrigen den Eindruck der Fixierung. — Essigsäure von 0,01 %; nach 30 Minuten alle Zellen tot. Die Kerne mehr oder weniger kugelig contrahiert, sich trübend, nirgends seitliche Contraction. — Essigsäure 0,001 %; nach 3 Tagen 25 bis 30 % der Zellen tot, die Hauptmenge der Zellen samt Kern noch völlig normal.

Picrinsäure 0,1 %. Nach 5 Minuten alle Zellkerne kugelig contrahiert und trübe; die Zellen sterben dabei total ab.

Schwefelsäure 1 %. Der Zellkern beginnt sofort unter Trübung sich kugelig zu contrahieren, erhärtet aber sehr rasch, noch bevor die Kugel vollendet ist; nur hier und da, wo die Plasmastränge gleich anfangs abgerissen sind, ist die Kugelbildung vollendet.

3. Verhalten des Zellkerns gegen verschiedene andere Gifte.

Dinatriumsulfit 0,5 %. Nach 10 Minuten die Kerne der Kugelform etwas genähert und oft aus der zentralen Lage geraten. Nach einiger Zeit beginnen sich weitere Schädigungen zu zeigen, aber nirgends ist die seitliche Kerncontraction bemerkbar.

Silbernitrat 0,1 %. Die Zellen sterben sehr rasch, und der Zellkern, der seine zentrale Lage beibehält, zeigt hier eine unregelmäßige rundliche Form, aber keine seitliche Contraction, vermutlich weil er hierfür zu rasch abgestorben ist.

Kaliumpermanganat 0,5 %. In 5 Minuten die Zellen tot und von etwas Mangansuperoxyd braun gefärbt. Wo Kerne überhaupt noch sichtbar, da sind sie etwas der Kugelform genähert, wie im Begriff, die Kugelform anzunehmen. Nirgends seitliche Contraction.

Neutrales Kaliumchromat 0,5 % wirkt sehr langsam ein. Nach 2 Tagen sind viele Zellen tot, aber der Kern zeigt nirgends seitliche Contraction, sondern den Beginn der kugeligen.

Jodjodkalium 0,5 %. Der Kern stirbt unter Gelbfärbung momentan ab, er bleibt fixiert und contrahiert sich nicht.

Unterchlorigsaures Kali 0,1 %. Nach 6 Minuten ist der ganze Inhalt contrahiert, der Nucleus nicht mehr sichtbar und das Chlorophyll gebleicht. — Bei 0,01 % ist nach 10 Minuten zwar noch Turgor vorhanden, aber sämtliche Zellkerne verändert, die meisten zeigen seitliche Contraction, doch hier und da sind die Plasmastränge abgerissen und der Kern zur Kugel contrahiert.

Formaldehyd 1 %. Nach 1 Stunde die Zellkerne fast überall in seitlicher Contraction. Bei Formaldehyd von 35 % sind die Kerne teils fixiert, teils auch zu kleinen Kugeln contrahiert.

Äther. Nach 5 Minuten der Zellkern kugelig contrahiert, an der Seite liegend. Ebenso wirkt Alkohol von 20 % in

25 Minuten und Erhitzung auf 50° in 2 Minuten. Absoluter Alkohol contrahiert den Zellkern momentan zu einer kleinen trüben Kugel; Nucleolus heller als der Nucleus; Plasmastränge nicht mehr sichtbar.

Phenol 1 %. Momentan alle Zellen getötet, Cytoplasma von der Zellwand abgelöst und alle Kerne in kugeliger Contraction.

Pyrogallol 1 %. Nach 5 Minuten unverändert, nach weiteren 10 Minuten beginnt eine Trübung der Zellkerne. Selbst nach weiteren 10 Minuten ist der Kern noch lebend, denn er reagiert mit einer Lösung von 1 % Kaliumoxalat rasch unter Contraction. Nach einer weiteren halben Stunde ist der Kern sehr dunkel geworden (wahrscheinlich durch Bildung eines Oxydationsproduktes des Pyrogallols) und abgestorben unter mäßiger seitlicher Contraction. Bald darauf ist auch das Cytoplasma tot.

Freies Anilin 1 %. In 5 Minuten die meisten Zellen total abgestorben und der Zellkern überall kugelig contrahiert.

Brillantgrün 0,01 %. In 3 Minuten alle Zellkerne in kugeliger Contraction, ohne vorherige Farbstoffaufnahme und ohne Trübung zu zeigen. Diese merkwürdig starke Giftwirkung ist bei anderen Anilinfarben nicht oft zu finden[1]).

4. Verhalten der Magnesiumsalze zum Zellkern.

Die Giftwirkung der Magnesiumsalze auf den Zellkern von Spirogyra ist durch ihre Langsamkeit charakterisiert. Selbst bei Anwendung einer 1 %igen Lösung von Magnesiumsulfat (wasserfrei) zeigt sich erst im Verlauf von 3 Stunden eine deutliche Einwirkung durch Beginn der kugeligen Contraction des Kernes. Doch sind die Zellen erst nach 12 bis 20 Stunden völlig abgestorben. Die Wirkung erinnert an diejenige der 0,1 %igen Lösung von Dikaliumoxalat. Eine Magnesiumsulfatlösung von 0,5 % zeigt erst nach 8 Stunden die beginnende kugelige Zellkerncontraction, und erst nach 2 Tagen sind alle Zellen der eingelegten Fäden unter Zerreißung der Chlorophyllbänder abgestorben. In Lösungen von 0,2 % Magnesiumnitrat

---

[1]) Malachitgrün, das ebenso stark wirkt, enthält eine ähnliche Base. Neutralrot greift den Kern fast ebenso rasch an, das Cytoplasma aber nur sehr langsam; Methylgrün und Congorot wirken wesentlich langsamer.

oder Magnesiumchlorid oder Sulfat sind die Zellen in 4 Tagen ganz abgestorben, während in Kontroll-Lösungen von 0,2 % Kaliumsulfat — Chlorid — oder Nitrat Schädigungen erst nach 3 Wochen beginnen. In einer Lösung von 0,5 % Natriumacetat wurden die Zellkerne nach 2 Tagen noch völlig normal befunden.

Bei Behandlung mit den einzelnen Nährsalzen zeigt es sich, daß Calciumsalze am längsten von allen Salzen ertragen werden. In einer Lösung von 1 % Chlorcalcium waren Spirogyrazellen nach 48 Tagen, in einer von 0,3 % nach 90 Tagen die meisten noch völlig normal. Solche Zellen können natürlich wegen Abwesenheit der anderen Nährsalze nicht wachsen, ihre Tätigkeit beschränkt sich auf Stärkebildung durch Assimilation und Stärkeverbrauch durch Respiration. Die Giftwirkung von Magnesiumsalzen beruht, wie ich früher aus mehreren Tatsachen[1]) schon gefolgert habe, auf der Verdrängung von Calcium durch Magnesium[2]), eine Erklärung, die wohl als bestätigt angesehen werden kann durch Beobachtungen von Malcolm sowohl als von Mendel und Benedict, daß Magnesiumsalze bei Tieren Calcium verdrängend wirken.

Es ist behauptet worden, daß die Giftwirkung der Magnesiumsalze auch durch Kaliumsalze aufgehoben werden könnte. Aber es handelt sich hier nur um eine Verzögerung der Giftwirkung, nicht um eine Verhinderung. Dieser Grund der Verzögerung ist jedenfalls in der Bildung von Doppelsalzen zu suchen, die schwieriger eindringen und auch langsamer als die Magnesiasalze für sich mit dem Kern reagieren, weil das Magnesium in diesen Doppelsalzen vielleicht etwas fester gebunden ist. Das Kalium-Magnesium-Sulfat ist hierbei weniger schädlich als das Kalium-Magnesium-Chlorid, wie mir folgende Versuche von Spirogyra zeigten:

---

[1]) Es war einerseits die Tatsache, daß Calciumsalze die Giftwirkung der Magnesiumsalze aufheben, andererseits die Beobachtung, daß Magnesiumsalze auf kalkfreie Organismen nicht giftig wirken (die niedersten Formen der Algen und Pilze). Siehe hierüber auch diese Zeitschr. 38, 236 und 240; ferner Flora 1892, 385.

[2]) Die Giftwirkung der Lithiumsalze ist ähnlich, aber stärker, siehe Frerking, Flora 108, 449. Über die Wirkung von Strontiumsalzen auf Spirogyra siehe Flora 102, 96 und 104. Strontiumsalze werden sehr lange ertragen.

Salzlösung, 200 ccm	Resultat
0,1 % $MgCl_2$ + 0,15 % KCl	Die meisten Zellen tot in 10 Tagen.
0,1 % $MgCl_2$ + 0,15 % $CaCl_2$	Nach 80 Tagen alle Zellen normal.
0,2 % $Mg(No_3)_2$ + 0,15 % KNO_3	Die meisten Zellen tot in 17 Tagen.
0,2 % $Mg(NO_3)_2$ + 0,15 % $Ca(NO_3)_2$	Alle Zellen gesund nach 60 Tagen.
0,3 % $MgSO_4$ + 0,3 % K_2SO_4	Die Hälfte der Zellen tot in 50 Tagen.
0,3 % $MgSO_4$ + 0,3 % $CaSO_4$	Keine Spur von Schädigung nach 70 Tagen.

Auch an Gerstenkeimlingen wurde bewiesen, daß Kaliumsalze die Giftwirkung der Magnesiumsalze nur verzögern, aber nicht wie Calciumsalze völlig aufheben können[1]).

Schlußbemerkungen.

Beim Absterben des Zellkernes von Spirogyra kann die Contraction zwei verschiedene Formen annehmen, die kugelige und die seitliche Contraction. Erstere ist die gewöhnliche, letztere nur auf spezielle Fälle der Giftwirkung beschränkt und charakteristisch für die Wirkung kalkfällender Salze, von denen bis jetzt oxalsaures Kali und Fluornatrium versucht worden waren. Es hat sich nun weiter gezeigt, daß andere kalkfällende Salze zwar ebenso wirken, aber die einen weit langsamer und nur bei höherer Konzentration, nämlich Dikaliumorthophosphat, Dikaliumcarbonat und Trikaliumcitrat, während andere, nämlich pyrophosphorsaures und metaphosphorsaures Natron, ebenso stark wirken wie das Oxalat. Es ist daher die Folgerung nicht von der Hand zu weisen, daß die bei Wirbeltieren konstatierte starke Giftwirkung der Pyro- und Metaphosphorsäure, zum großen Teil wenigstens, ebenso wie bei Kaliumoxalat und Natriumfluorid auf Kalkentziehung aus den Zellkernen beruht[2]).

Kaliumsulfat und Dikaliumtartrat wirken bei 0,5 % nicht wie die kalkfällenden Salze auf den Zellkern, sie sind bei 0,5 % längere Zeit ganz unwirksam.

---

[1]) Siehe Flora 102, 110.

[2]) Es gelang Janusohke, die Oxalsäurelähmung eines Frosches durch Kalkzufuhr rückgängig zu machen (auch bei Fluorvergiftung gelang es). Dasselbe dürfte bei Vergiftung mit Pyro- und Metaphosphorsäure möglich sein.

Saure Salze und Säuren führen beim Abtöten des Kerns gewöhnlich zur kugeligen, nicht zur seitlichen Contraction des Zellkerns.

Die Giftwirkung der Magnesiumsalze beruht ebenfalls auf der Kalkverdrängung. Nur Kalksalze verhindern diese Giftwirkung, Kalisalze üben lediglich einen verzögernden Einfluß aus, und dieses beruht wahrscheinlich auf der Bildung von schwerer reagierfähigen Doppelsalzen. In Lösungen von Calciumsalzen bleiben bei Ausschluß anderer Salze die Zellen auffallend lange am Leben, was die geäußerte Annahme widerlegt, daß jedes einzelne Nährsalz für sich bei Ausschluß anderer Salze eine schädliche Wirkung ausüben soll.

Über acetylierte Eiweißkörper.

Von

K. Landsteiner und E. Prášek.

(Ausgeführt mit Unterstützung der fürstlich Liechtensteinschen Spende.)
(Aus der Prosektur des k. k. Wilhelminenspitales in Wien.)

(Eingegangen am 21. März 1916.)

Untersuchungen über das serologische Verhalten von acetyliertem Eiweiß gaben uns den Anlaß, einige quantitative Bestimmungen mit diesen Substanzen auszuführen.

Von früheren Untersuchungen über Acetylderivate der Eiweißkörper sind die von Schrötter[1]) über acetylierte und benzoylierte Albumosen und die von Suida[2]) über die Einwirkung von Acetanhydrid und Acetylchlorid auf Schafwolle anzuführen. Eine ausführliche Mitteilung über Benzoylverbindungen von Eiweißkörpern machten vor kurzem Blum und Umbach[3]). Sie führten Benzoylierungen in alkalischer wäßriger Lösung unter Zusatz von NaOH, $NaHCO_3$ oder Mg aus und verwendeten als Eiweißkörper durch Fällen mit Ammonsulfat hergestellte Globuline und Albumine des Serums und Jodeiweißkörper. Einzelne Versuche machten die Autoren auch mit Chlorkohlensäureester und Benzolsulfochlorid.

Über die Acylierung von Eiweiß in wasserfreiem Medium hat der eine von uns vor einiger Zeit berichtet[4]). Das erhaltene Acetylderivat zeigte charakteristische Eigenschaften,

---

[1]) Monatsh. f. Chem. **14**, 612, 1893; **17**, 199, 1896; **19**, 211, 1898. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **22**, 1950, 1898.

[2]) Monatsh. f. Chem. **25**, 1107, 1904; **26**, 413, 855, 1905; **27**, 215, 1193, 1906.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **88**, 285, 1913.

[4]) Diese Zeitschr. **58**, 362, 1913.

nämlich negative oder sehr schwache Millonsche, negative Ninhydrinreaktion, Resistenz gegen Verdauungsfermente und Fehlen der serologischen Artspezifität bei der Prüfung mit Hilfe der Komplementbindungsreaktion[1]).

In der vorliegenden Mitteilung beschreiben wir Versuche zur quantitativen Bestimmung der Acetylgruppen in acetylierten Proteinen.

Die Bestimmungen wurden mit kleinen Modifikationen nach der Wenzelschen Methode[2]) vorgenommen.

Die Substanzen wurden entweder nach vorhergehendem Trocknen bei 100° analysiert, oder der Wassergehalt in einer zweiten Probe bestimmt. Ungefähr 0,4 g der Substanz wurden mit 5 ccm 84%iger Phosphorsäure (Kahlbaum) und 5 ccm Wasser im Apparate von Wenzel durch 12stündiges Erhitzen auf dem Wasserbade zersetzt und wie bei der Originalmethode (nur ohne Zusatz von Phosphatlösung) die abgespaltene Essigsäure[3]) im Vakuum abdestilliert und in 20 ccm n-Lauge aufgefangen; dann wurden noch zweimal je 20 ccm ausgekochten destillierten Wassers nachgefüllt und jedesmal abdestilliert. Um übergegangene Kohlensäure zu entfernen, wurden zu der Vorlageflüssigkeit 20 ccm $^{n}/_{10}$-HCl zugesetzt und unter Rückfluß gekocht, dann mit $^{n}/_{10}$-Lauge und Phenolphthalein die Essigsäure bestimmt.

Es ist zu bemerken, daß bei wiederholter Destillation ein scharfes Ende nicht erreicht wird. Nach jedesmaligem Nachgießen von 20 ccm Wasser geht bei der Destillation wieder eine geringe Menge einer sauren Substanz über, wie es übrigens auch Wenzel für seine Methode angibt; nur ist in unserem Falle die Menge vielleicht etwas größer und beträgt bei einmaligem Abdestillieren von 20 ccm Wasser häufig 0,3 ccm $^{n}/_{10}$-Säure. Dies mag damit zusammenhängen, daß man auch bei der Verarbeitung von nicht acetyliertem Eiweiß nach der beschriebenen Methode schwach saure Destillate erhält. Es ist aus diesen Gründen, um vergleichbare Werte zu erzielen, nötig, die Destillation immer möglichst gleichartig vorzunehmen, und zweitens, mit jeder Substanz auch in nicht acetyliertem Zustand eine Bestimmung zu machen und die erhaltene Zahl von der des Acetylderivates abzuziehen.

Eine andere Schwierigkeit ist folgende. Es besteht offenbar die Möglichkeit, daß bei der Einwirkung des Acetanhydrids Essigsäure von Eiweiß festgehalten und so ein Eintritt von Acetylgruppen vorgetäuscht werden könnte. Um diese Möglichkeit auszuschalten, wurden die Acetyl-

---

[1]) Landsteiner und Jablons, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 21, 193, 1914. — Vgl. Landsteiner und Prášek, diese Zeitschr. 61, 191, 1914.

[2]) Monatsh. f. Chem. 18, 658, 1897.

[3]) Vgl. die Analyse des Ag-Salzes l. c.

produkte ohne vorhergehendes Trocknen[1]) in sehr gründlicher Weise (Durchrühren des Niederschlages) auf dem Filter mit Alkohol und Wasser gewaschen, dann in Wasser aufgeschwemmt, mit Lauge bis zu stark alkalischer Reaktion versetzt, wieder auf dem Filter mit Wasser mehrmals gewaschen, nochmals aufgeschwemmt und mit Schwefelsäure angesäuert und die Waschungen mit Wasser und Alkohol wiederholt, dann mit Äther der Alkohol entfernt und getrocknet. Es wurde so erreicht, daß anhaftende oder gebundene Essigsäure nicht mehr in Betracht kam. Dies wird dadurch bewiesen, daß mit kaltem oder warmem Eisessig statt mit Acetanhydrid behandeltes Eiweiß nach diesem Reinigungsverfahren fast dieselben Zahlen gab wie unverändertes Eiweiß. Das mit Eisessig behandelte Eiweiß gibt positive Ninhydrin- und positive, nach dem Erhitzen mit Eisessig vielleicht abgeschwächte Millon-Reaktion. Einige Bestimmungen mit unverändertem, durch Alkohol gefälltem Pferdeeiweiß ergaben Säuremengen von 1,83, 1,73, 1,42, 1,64, 1,76, 1,58%, im Mittel 1,66%, als CH_3CO berechnet. Nach dem Behandeln des gefällten Eiweißes aus 100 ccm Serum mit 200 ccm Eisessig bei Zimmertemperatur wurden 1,13%, nach 4stündigem Erwärmen mit der gleichen Menge Eisessig auf dem Wasserbade 1,17% gefunden.

Andererseits ist daran zu denken, daß durch die Waschung mit Lauge und Säure Acetylgruppen abgespalten und zu niedrige Zahlen erhalten werden können, und wir fanden diese Vermutung bei Anwendung etwas stärkerer Lauge bestätigt. In diesem Umstand und andererseits der Möglichkeit einer ungenügenden Entfernung der Essigsäure liegt vorläufig eine Fehlerquelle, durch die möglicherweise einige auffallende Ergebnisse (s. u.) zu erklären sind. Es bleibt demnach wünschenswert, eine besser definierte Darstellungsmethode auszuarbeiten (siehe auch die Angaben über verschieden lange Einwirkung des Acetanhydrids).

Die Herstellung der Acetylprodukte geschah wie früher durch Ausfällen von verdünntem Serum mit Alkohol, Waschen des ziemlich fein verteilten Niederschlages mit absolutem Alkohol und trockenem Äther und Einwirkung von Acetanhydrid. Von einer Trennung der einzelnen Eiweißfraktionen — Globuline, Albumine — haben wir abgesehen.

Um festzustellen, welchen Einfluß eine verschieden intensive Einwirkung des Acetanhydrids auf die Acetylzahlen hat, wurde die Menge des Acetanhydrids, Einwirkungsdauer und Temperatur variiert.

In der folgenden Tabelle ist die Menge des Acetanhydrids durch die Zahl der Kubikzentimeter ausgedrückt, die für das Eiweiß aus 100 ccm Pferdeserum genommen wurden. Die Acetylzahlen geben den

[1]) cf. l. c.

Gehalt an CH_3CO in Prozenten an, nach Abzug der bei unverändertem Serumeiweiß gefundenen Zahl 1,66.

Menge des Acetanhydrids ccm	Art der Einwirkung	Acetylgehalt %
2[1]	24h Zimmertemperatur	3,21
2[1]	3h Wasserbad	4,32
10[1]	24h Zimmertemperatur	4,11
10[1]	3h Wasserbad	4,92
10[2]	3h "	5,56
50	1h "	6,56
50[2]	3h "	8,13
50	3h "	9,03
100	48h Zimmertemperatur	5,69
100	3h Wasserbad	7,36
200	3h Zimmertemperatur	4,75
200	48h "	5,80
	dasselbe Präparat	5,56
200	1h Wasserbad	7,11
	dasselbe Präparat	7,36
200	3h Wasserbad	7,38
200	3h "	7,96
200	3h "	9,74
200	3h "	7,10
200	3h "	8,26
	dasselbe Präparat	7,90
200	12h Wasserbad	10,86
200	24h "	9,91
200	24h "	10,83

Nach der Einwirkung von Acetylchlorid (100 ccm) auf Serumeiweiß durch 7 Tage bei Zimmertemperatur oder 3 Stunden auf dem Wasserbade wurde ein Acetylgehalt von ungefähr 6,5% gefunden.

Wie die erhaltenen Resultate zeigen, nehmen die Acetylzahlen zu, wenn man die Menge des Anhydrids verringert und die Temperatur erhöht. Die hauptsächliche Einwirkung findet schon während einer 3stündigen Erwärmung auf dem Wasserbade statt, doch steigen die Zahlen bei einer Verlängerung der Reaktion bis zu 24 Stunden noch an; dabei trat schon eine geringe Verfärbung des Produktes ein.

Wenn die Werte auch keine genügende Konstanz zeigen, schien es doch möglich, etwa vorhandene große Unterschiede im Verhalten verschiedener Eiweißkörper zu erkennen.

---

[1]) + 100 ccm Äther.

[2]) + 100 ccm Benzol.

Wir untersuchten zunächst Serumeiweiß des Rindes und Huhnes, wieder ohne eine Fraktionierung vorzunehmen. Bei 3stündiger Erwärmung mit 200 ccm Anhydrid fanden wir bei Rindereiweiß 8,90%, bei Hühnereiweiß 9,53% Acetyl. Ein sicherer Unterschied gegenüber dem Pferdeeiweiß war demnach nicht nachzuweisen, doch ist die geringe Genauigkeit der Bestimmungen zu bedenken. Blum und Umbach glauben geringe Unterschiede in den Ergebnissen der Elementaranalyse ihrer Benzoylprodukte, z. B. 57,13% C bei Pferde-, 56,59% bei Rinderglobulin, als artspezifisch ansehen zu können.

Die folgenden Analysen betreffen acetyliertes Edestin, Gelatine, Seidenfibroin, Witte-Pepton.

Edestin wurde aus einer verdünnten Lösung in 5%iger NaCl-Lösung bei etwa 50° mit warmem Alkohol unter Umrühren feinflockig gefällt und dann acetyliert. Auch Gelatine wurde durch Fällen mit Alkohol aus einer warmen wäßrigen Lösung und Verreiben des Niederschlages in fein verteilter Form erhalten. Edestin, Gelatine und Witte-Pepton wurden mit der 10fachen Menge Acetanhydrid 3 Stunden auf dem Wasserbade erwärmt, Seidenfibroin mit Acetanhydrid übergossen und ebenso behandelt. Die unveränderten Körper ergaben folgende Zahlen: Edestin 2,36%, 2,07; Gelatine 1,28%, 1,59%; Seidenfibroin 0,79%, nach Behandlung mit Eisessig 1,26%; Witte-Pepton 1,11%.

Nach der Acetylierung erhielten wir die folgenden Werte (die in den Kontrollversuchen gefundenen Zahlen sind abgezogen):

Edestin	4,99
„	4,44
„	4,15
Gelatine	6,74
Dasselbe Präparat	6,42
Seidenfibroin	4,93
„	4,82
„	5,50
Dasselbe Präparat	5,93
Witte-Pepton	10,15

Diese Resultate, im Vergleich mit den Bestimmungen an acetyliertem Serumeiweiß, lassen vermuten, daß in bezug auf die Aufnahme von Acetylgruppen zwischen verschiedenen Eiweißkörpern nachweisbare quantitative Unterschiede bestehen.

Was den Ort des Eintrittes von Acetylgruppen anbelangt, so ist aus der Beeinträchtigung der Millonschen Reaktion auf die Acetylierung der Hydroxylgruppen des Tyrosins zu schließen. Da ferner mehr Acetyl in den Substanzen enthalten ist, als

dem OCH_3-Gehalt bei der Methylierung mit Diazomethan entspricht[1]), diese Methylgruppen aber vorwiegend auf Carboxyle entfallen dürften, deren Acylierung unwahrscheinlich ist, so läßt sich vermuten, daß der größere Teil der Acetylgruppen an N gebunden wird.

In dieser Beziehung ist zu erwähnen, daß in einem vorläufigen Versuche acetyliertes Serumeiweiß bei der Bestimmung nach van Slyke nur eine sehr geringe Menge Stickstoff entwickelte, ein Resultat, das auf die Acetylierung der freien Aminogruppe des Lysins hindeutet[2]).

[1]) Diese Zeitschr. **58**, 362, 1913; Herzig und Landsteiner **61**, 458, 1914. — cf. **67**, 334, 1914.

[2]) van Slyke und Birchard, Journ. of Biolog. Chem. **16**, 539, 1914. — Kossel und Cameron, Zeitschr. f. physiol. Chem. **76**, 457, 1912; vgl. Kossel und Gawrilow, Zeitschr. f. physiol. Chem. **81**, 274, 1912; Siegfried, Zeitschr. f. physiol. Chem. **90**, 271, 1914.

Über das Auftreten von Hämatin im Blute bei Vergiftung mit Chloraten.[1])

Von

Joh. Feigl.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Barmbeck.)

(Eingegangen am 22. März 1916.)

Im Jahre 1912 wurde zum ersten Male Hämatinämie bei toxischem Blutkörperchenzerfall und zwar aus Anlaß einer akuten Chromvergiftung festgestellt[2]). Später haben sich bei planmäßigen Untersuchungen des großen Materials aus den Hamburger Krankenhäusern Eppendorf und Barmbeck, das zudem durch häufigere Zuwendungen anderer Anstalten ergänzt werden konnte, verschiedene weitere Fälle finden lassen, bei denen früher als typische Methämoglobinbildner angesehene Gifte Hämatin im Blute erzeugt hatten[3]). Einen der ersten Fälle aus diesen Beobachtungsreihen, der wohl zugleich einer der interessantesten geblieben ist, habe ich von Anfang bis Ende zu verfolgen Gelegenheit gehabt. Es handelte sich um einen außerordentlich ungünstigen, schließlich doch geheilten Fall von Vergiftung mit Kaliumchlorat, an dessen Untersuchung experimentell-toxikologische Arbeiten angeknüpft wurden[4]).

---

[1]) Die Publikation dieser bereits im Frühsommer 1914 fertiggestellten Arbeit wurde durch äußere Umstände im Zusammenhange mit dem Kriege bisher verzögert.

[2]) O. Schumm, Hämatinämie bei toxischem Blutkörperchenzerfall. Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 1, 1912.

[3]) O. Schumm, Hämatin als pathologischer Bestandteil des Blutes. Zeitschr. f. physiol. Chem. 97, 32, 1916.

[4]) J. Feigl, Chem.-physiol. Untersuchung eines Falles von Kaliumchloratvergiftung. Demonstration in Verbindung mit Schaedel. Hamb.

Einleitung.

Es ist schon heute vorauszusehen, daß das große Gebiet der toxischen Methämoglobinbildung einer neuen Durchdringung entgegengeht. Daß es sich bei der Entstehung des Hämatins, die für die typischen Gifte, Chromate, Chlorate, aromatische Nitrokörper[1]), Resorcin[2]) u. a. m. zweifelsfrei nachgewiesen wurde, um zufällige Neben- oder Folgeerscheinungen der Methämoglobinbildung handeln sollte, ist nicht mehr anzunehmen. Auch können weiterhin mögliche Einwendungen, die wenigstens für einige der vorliegenden klinischen Beobachtungen a priori eine Berechtigung hätten, nämlich, daß Reaktionen auf der Basis individueller Verhältnisse des einzelnen Falles, ferner solche im Zusammenhange mit anders gearteten, pathologischen Vorbedingungen eine Rolle zu spielen vermöchten, außer acht gelassen werden.

Es ist somit denkbar, daß in dem großen Gebiete der Methämoglobinbildner überhaupt noch weitere Typen wie Individuen sich gleichzeitig als Hämatinbildner erweisen werden, daß es mithin eine „isolierte Methämoglobinbildung" als alleinigen Ausdruck des Vorganges auf toxischer Basis sicher nicht in allen dafür angesehenen Fällen gibt. Mit der Auffindung des Hämatins bei den genannten Vergiftungen steht man naturgemäß vor verschieden gerichteten Fragen über seinen Zusammenhang mit der Erzeugung resp. der Zerstörung des Methämoglobins.

Es verlohnt sich im Rahmen dieser Arbeit nicht, auf den gegenwärtigen Stand der Theorie des Methämoglobins einzugehen; diese sowohl, so wichtig die beschriebenen verschiedenen Formen sicher auch sein mögen, wie die toxikologischen Verhältnisse sind in den Handbüchern festgelegt und bedürfen bei der Behandlung einzelner toxikologischer Beobachtungen zunächst keiner Erörterung. Namentlich was die praktische Seite

---

Ärzte-Corresp. 1914, Nr. 10, S. 126; Nr. 12, S. 152. — Vortrag in d. Biol. Abt. des Ärztl. Vereins zu Hamburg 7. IV. 1914, 1914. — Ref. Münch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 28, S. 1583.

[1]) O. Schumm, a. a. O. Nr. 2.

[2]) J. Feigl, beobachtet bei einem Todesfall (Kind), 1916; noch nicht mitgeteilt.

angeht, ist die Lehre von der Wirkung dieser spezifischen Giftstoffe in der letzten Zeit stabil geblieben[1]). Es genügt die Feststellung, daß auch die neueren und neuesten Arbeiten für den in Rede stehenden Fall der Chloratwirkungen über eine Entstehung von Hämatin nichts berichten[2]).

Dagegen befinden sich Untersuchungen über die experimentellen Voraussetzungen für die Spektroskopie des Blutfarbstoffs und seiner Umwandlungsprodukte heute noch in vollem Flusse. Die Apparaturen sind einer ständigen Vervollkommnung zugänglich gemacht worden seit Einführung der Gitterapparate, der Verbesserung ihrer Teile, besonders der Vervollkommnung der Messung[3]) und der photographischen Darstellung[4]). Erst diese Ausgestaltung hat es ermöglicht, die Frage des optischen Verhaltens, d. i. der Absorptionserscheinungen des Blutfarbstoffs und seiner Derivate gewissermaßen von vornherein neu in Angriff zu nehmen.

Hier seien besonders die Arbeiten von Schumm genannt, die subtile Messungen an Oxyhämoglobin[5]), Hämatin, Hämochromogen und Hämatoporphyrin[6]) zum Gegenstande haben. Neben den so gewonnenen Grundlagen für eine erweiterte, verfeinerte und damit erfolgreichere Anwendung der Blutspektroskopie im Dienste pathologisch-chemischer Fragen hat sich auch

---

[1]) Erben, Vergiftungen 1, 205, 1910.

[2]) A. Bornstein und Fr. Müller, Untersuchungen über den genuinen Blutfarbstoff normaler und mit chlorsauren Salzen vergifteter Katzen. Arch. f. Anat. u. Physiol., II. Abtlg., 1907, 471.

[3]) O. Schumm, Ein neues Gitterspektroskop und ein Gitterspektrograph mit variabler Dispersion zu Untersuchungen über Absorptionsspektra. Über Messung und Bestimmung der Absorptionsspektra. Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 287, 1910. — O. Schumm, Spektroskopische Methoden in E. Abderhalden, Handbuch der Biochem. Arbeitsmethoden 6, 393, 1912.

[4]) W. Gummelt, Zur Technik der Photographie von Absorptionsspektren, Fortschritte auf dem Gebiete der Röntgenstrahlen 15, 162, 1910. — O. Schumm, l. c. — Franz Rost u. Heise, Beiträge zur Photographie der Blutspektra. Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte Berlin 1909.

[5]) O. Schumm, Untersuchungen über die Absorptionserscheinungen des Oxyhämoglobins. Zeitschr. f. physiol. Chem. 83, 1, 1913.

[6]) O. Schumm, Über das Hämatoporphyrin aus Harn und Knochen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 96, 186, 1915. Dort Angabe über weitere Arbeiten.

die experimentelle Ausführungsform, was besonders für die klinischen Aufgaben maßgebend ist, verbessern lassen. Hier war es ein großer Fortschritt, als die Feststellung gelang und sich später weiterhin bewährte, daß die Zersetzungsprodukte im Serum in einer dem optischen und chemischen Nachweis weitaus günstigeren, zumeist ihn allein ermöglichenden Verteilung vorhanden sind.

Die obengenannte erste Mitteilung über Hämatinbefunde im Serum bei akuter Chromatvergiftung enthält Angaben über die anfänglichen Schwierigkeiten, die sich dem Nachweise entgegenstellten. In seiner zweiten Arbeit gibt derselbe Autor eine genaue experimentelle Durcharbeitung dieser Aufgabe; mit den Grundlagen für das optische Verhalten und der Übertragung des Untersuchungsverfahrens vom Hämatin selbst auf den Verlauf seiner Reduktion zum Hämochromogen mit dessen eigenen charakteristischen Absorptionsbildern ließ sich auch die Aufgabe einer Schätzung des Hämatingehalts lösen[1]). Hierfür ist eine bestimmte Form angegeben, die sich auf die Nachweisbarkeit des ersten Hämochromogenstreifens bei bestimmten Schichtdicken bezieht, daraus eine graduell abgestufte Bezeichnung abgeleitet und die Grenze für 4 cm Schichtdicke unter günstigen Umständen zu einer 0,035% Blut entsprechenden Hämatinmenge geschätzt worden.

Die weiteren Voraussetzungen sind zunächst die braungelbe, rauchgraue, braungraue, in günstigen Fällen porterbraune Farbe von Hämatinseris. Daß man die Farbe der Sera nicht zur Grundlage selbst einfacher Vermutungen machen kann, ist in der genannten Arbeit kurz betont worden, und außerdem an sich einleuchtend, weil ja schon „normale" Sera Farben- und Durchsichtigkeitsdifferenzen zeigen[2]). Nimmt man nun die Möglichkeit hinzu, Bilirubin, das übrigens nach den hiesigen Erfahrungen auf Grund intensiver Beforschung unseres umfangreichen klinischen Materials unter Mitarbeit von Querner weit

[1]) O. Schumm, Über den Nachweis von Hämatin im menschlichen Blutserum. Zeitschr. f. physiol. Chem. 87, 159, 1913.

[2]) Daß hier und da dieser Einsicht nicht genügend Rechnung getragen wird, ist zu beklagen. Vgl. Demonstration über Hauptpigment und Serumfarbe bei Morbus Addisonii von Kafka zum Vortrage von Fahr und Reiche; Ärztl. Verein zu Hamburg, 1916, III, 6.

häufiger auftritt, als man ohne nähere statistische Kenntnis selbst im Zusammenhang mit den klassischen französischen Publikationen anzunehmen geneigt ist[1]), beteilige sich an der Erzielung der Mischfarbe, so ergibt sich nicht nur die Ablehnung der reinen Farbbeobachtung, sondern, was mehr ins Gewicht fällt, die Erschwerung der analytischen Entwirrung überhaupt. Eine solche tritt ja, was chemische Reaktionen angeht, bereits bei den Fragen nach der Bilirubinbildung im Zusammenhange mit dem Bestehen von Blutfarbstoffzerfall[2]) nach der Anwesenheit von Urobilin und nach den als Melanogen definierten Vorstufen der Melaninkörper hervor. Sie hat uns bereits bei diesem, wie einem ferner zu beschreibenden Anlasse[3]), auch später bei der chemischen Untersuchung eines Falles von Melanurie durch Verfasser in Verbindung mit Querner[4]), sowie überhaupt bei nicht toxischen Hämatinämien oft beschäftigt.

Untersuchungsgang.

Für die Bestimmung des Hämatins ergibt sich sonach ein gewisser Untersuchungsgang, der mit der Aufsuchung des „Orangestreifens“ beginnt. Da dieser nur bei ansehnlichem Gehalt direkt bemerkbar ist, wird der Nachweis auf das Hämochromogen mit seinen im Vergleich zum Hämatin erheblich stärkeren und typischeren Absorptionserscheinungen übertragen, wobei dann allerdings in den meisten, auch schwierigeren Fällen die Aufgabe lösbar ist. Umständlicher wird die Sache, wenn außer Hämatin Oxyhämoglobin vorhanden ist; bei geringeren Konzentrationen des ersteren wird die Erkennung vermittels des spezifischen Orangestreifens kaum beeinflußt. Besondere

---

[1]) Noch unveröffentlichte Untersuchungen von 1913 bis 1916.

[2]) O. Schumm und C. Hegler, Vortrag in der Biol. Abt. des Ärztl. Vereins zu Hamburg, 29. XII. 1912. — Hymans v. d. Berg und Snapper, Über anhepatische Gallenfarbstoffbildung. Berl. klin. Wochenschr. 1915, Nr. 42.

[3]) J. Feigl, Chem.-physiol. Untersuchungen an den Teilnehmern eines Armeegepäckmarsches 1914, in Verbindung mit Querner. Referat (Diskussion zum Vortrag von Knack) im Ärztlichen Verein zu Hamburg, 25. I. 1915.

[4]) E. Querner, Demonstration im Ärztlichen Verein zu Hamburg, 19. X. 1915.

Aufmerksamkeit erfordern Aufgaben, wie mehrfach anläßlich unserer Chloratversuche, bei denen es zum gemeinsamen Übertritt von Methämoglobin und Hämatin ins Serum kommt, wofern man sich auf den Orangestreifen des letzteren stützen will. Dann kann nur die genaue Ortsbestimmung des Rotstreifens gegen den gesuchten im Orange entscheidend zum Ziele führen. Fälle dieser Art sind es auch, die am anschaulichsten illustrieren, warum die Auffindung des Hämatins früher verfehlt wurde. Hat doch Schumm zuerst festgestellt, daß bei Anwesenheit von Methämoglobin und Hämatin nebeneinander nicht immer getrennte Absorptionsstreifen typischer Lage, sondern ein einziges breites, verwaschenes Band auftreten kann, dessen Einmessung nach bekannten Gesichtspunkten zu erfolgen hat[1]). Hierüber enthalten die zitierten Arbeiten nähere, zudem photographisch gestützte Angaben. Wichtig bleibt der Befund, daß weder Oxyhämoglobin noch Methämoglobin nach meinen oft angestellten Untersuchungen, die mit Schumms Erfahrungen übereinstimmen, zur unmittelbaren oder mittelbaren Hämochromogenbildung Anlaß geboten haben.

Wesentlich für die ganze Frage ist die Theorie des Hämatins. In den zitierten Arbeiten wie in meinen eigenen hat es sich stets um wirkliches Hämatin gehandelt, gekennzeichnet durch den verwaschenen Absorptionsstreifen im Orange, der weiter nach dem Gelbbereich hin liegt als der Rotstreifen des Methämoglobins und der in leicht alkalisierter Lösung durch Schütteln mit Luft weder in seiner Intensität herabgesetzt, noch auch zum Verschwinden gebracht wird, überdies den geschilderten Übergang in Hämochromogen erleidet. Die Zulässigkeit einer Betrachtung der Frage, ob strukturell leicht different gebaute Stoffe optisch gleiche oder nahezu gleiche Absorptionserscheinungen bei chemisch gleichem Verhalten nach der reduktiven Seite zu zeigen vermögen, ist ebendort zugegeben worden. Praktisch-toxikologische und diagnostische Bedeutung hat eine solche Möglichkeit zur Zeit nicht. Der Schwerpunkt liegt in der Tatsache, daß es bei biologischen Prozessen zum Auftreten eines Hämatins kommt, das im ganzen identisch ist mit dem ersten in der Literatur festgelegten, wohldefinierten Vertreter

---

[1]) a. a. O. S. 180.

dieses Begriffes, dessen Bezeichnung auf Hoppe-Seyler zurückgeht. Über die Frage geringster Spuren von Hämatin im normalen Blutserum wird an anderer Stelle zu sprechen sein.

Die Untersuchungen wurden ausgeführt mit einem fest aufgestellten präzisen Gitterapparat, der in Anlehnung an Angaben von Schumm bei Fueß-Steglitz für uns sachgemäß gebaut wurde. Die Beleuchtung erfolgt durch eine Nernstlampe mit freiliegendem Glühstift, der Kondensor ist verschiebbar, die Einrichtung zur Ortsbestimmung der Absorptionsstreifen entspricht den in der Literatur beschriebenen Apparaten. Es konnten Spaltweiten von 0,03 bis 0,06 mm bequem ausgenutzt werden. Die technische Durchführung ist an die beschriebenen sorgfältig hergestellten Kästen, Tröge und Küvetten mit planparallelen Wänden gebunden, die in geeigneten Längenmaßen (Schichtdicken) und Raummaßen (Menge der vorhandenen Seren) vorhanden sein müssen[1]).

Die Beobachtung beginnt bei geringer Spaltweite und größter Entfaltung der Lichtquelle. Die Gewinnung und Vorbereitung des Materials kann nicht peinlich genug gehandhabt werden durch sorgfältige Entnahme, sofortiges scharfes Zentrifugieren, völlige Fernhaltung von alterierenden Agentien aus Gerät und Gläsern und schleunige Untersuchung. Konservierende Zusätze aller Art sind zu vermeiden, worauf Schumm später noch einmal hingewiesen hat[2]). Zur Reduktion benutze man nur zuverlässiges Schwefelammonium und überschichte mit Äther, der nach meinen eigenen Erfahrungen vorteilhaft durch reinsten leichtsiedenden Petroläther ersetzt werden könnte. Man ist dann nicht an gelegentlich störende Wirkungen superoxyd-, alkohol-, aldehyd-, säure- usw. haltigen, zudem wasserlöslichen Äthers — Schädlichkeiten, die bei längerer Beobachtung m. E. eher unterschätzt als überschätzt werden — gebunden.

---

[1]) Tröge von 2,5 cm innerer Länge, 0,5 cm innerer Breite konnten noch mit einem Inhalt von 2,0 ccm Serum, solche von 0,3 cm Breite bis hinab zu 1,2 cm, größere Innenlängen (Schichtdicken) entsprechend benutzt werden.

[2]) O. Schumm, Münch. med. Wochenschr. 1914, Nr. 28, S. 1583.

Spektroskopische und chemische Untersuchungen aus Anlaß eines Falles von schwerer Chloratvergiftung.

Nachdem die experimentellen Voraussetzungen für den Verlauf der Untersuchung auf Hämatin in Kürze skizziert worden sind, beschreibe ich nunmehr das Tatsächliche des von mir beobachteten Falles und die in seinem Verlaufe erhobenen Befunde.

Am 16. Februar 1914 kam ein 32jähriger Mann in unsere Anstalt, der sich in selbstmörderischer Absicht mit Kaliumchlorat vergiftet hatte. Über die näheren Umstände ist zu sagen, daß er nach erheblichem Biergenuß eine Menge des Salzes sich einverleibt hatte, die wir nach den zunächst in Betracht kommenden Angaben auf über 50,0 g glaubten schätzen zu müssen. In der Krankengeschichte (Dr. Schaedel, Assistenzarzt der Direktorialabteilung von Prof. Dr. Rumpel) findet sich die damals alsbald verwertete Aussage der Ehefrau, daß ihr Mann 4 gehäufte Eßlöffel des Salzes in Wasser teils gelöst, teils verrührt getrunken habe. Doch wurde später ermittelt, daß ein Rest hinterblieben sei, der den endgültigen Schluß einer tatsächlichen Giftdosis von nahezu 40,0 g gestattete. Die Aufnahme geschah 13 Stunden nach der Vergiftung; Erbrechen war inzwischen nicht eingetreten; Patient hatte die gesamte Menge bei sich behalten und wurde erst durch die Magenspülung teilweise davon befreit. Anschließend erfolgte ein Aderlaß von 250,0 ccm und Kochsalzinfusion von 1000,0 ccm. Der Fall mußte während der ersten Krankheitstage als absolut, in den ersten drei Wochen noch als außerordentlich ungünstig angesehen werden; eine Wendung zum Guten erfolgte erst in der vierten Woche. Er bot in allen Einzelbefunden, mit den bisherigen Angaben übereinstimmend, die Erscheinungen einer überaus schweren Chloratvergiftung. Auf die eingehende Wiedergabe glaube ich demnach verzichten zu dürfen.

Bei der ersten, etwa 14 Stunden nach Genuß des Giftes gemachten Blutentnahme ergaben sich folgende Befunde: Lösungen des Vollblutes hatten das typische Aussehen reiner Methämoglobinlösungen; es ließ sich erweisen, daß es sich um echtes, in Oxyhämoglobin rückwandelbares Methämoglobin handelte. Das sofort durch scharfes Zentrifugieren abgetrennte

Serum enthielt am 1. Tage ebenfalls mäßige Mengen an echtem Methämoglobin, außerdem viel Hämatin, Ht 30 +, das vermittels des verwaschenen Orangestreifens auf $\mu\mu$ 620 nachgewiesen und durch die Umwandlung in Hämochromogen mit dem ersten Streifen auf $\mu\mu$ 556 genau charakterisiert wurde. Die Farbe war hell porterbraun, das Zentrifugat nicht, wie zumeist beschrieben, schokoladenbraun, sondern weit dunkler, schwärzlich braun mit bläulich-grauem, aber stumpfem Ton. In der später noch näher zu erörternden grundlegenden, methodisch und statistisch gleich wertvollen Arbeit von Merings findet sich u. a. ein Fall mit der Angabe „noirâtre", was m. E. am ehesten unseren Beobachtungen entsprechen würde. Die Koagula waren von klebriger und zäher Beschaffenheit. Am 3. Tage war bei leicht hellerer Nuance das Serum fast frei von Methämoglobin, dagegen sehr reich an Hämatin — Ht 40 + —, dessen Messung $\mu\mu$ 618 ergab. Auch hier wurde die Umwandlung in das sauerstofffreie Produkt bewirkt. Das Vollblut enthielt an diesem Tage noch reichlich Methämoglobin. Am 6. Tage war der Orangestreifen im Serum nur eben erkennbar; ferner war nach der erwähnten Skala Ht 8 +. Am 8. Tage wurde unzweifelhaft Hämatin, Ht 4 +, nachgewiesen. Noch am 10. war eine Spur davon bei sehr vorsichtiger Beobachtung erkennbar, die Herr Schumm, im Besitze vollkommener Apparate, nachzuprüfen und zu bestätigen liebenswürdigerweise bereit war. Methämoglobin war am 6. Tage im Vollblut nicht mehr nachgewiesen, die Erkennung seines Rotstreifens selbst in Konzentrationen respektive Schichtdicken günstigster Form, d. h. bei isolierter Rotdurchlässigkeit nach dem Vorschlage von Lewin, nicht durchführbar. Noch vor Verschwinden der ursprünglich schiefergrauen bzw. rauchgrauen Hautverfärbung zugunsten einer braunen, später gelbbraunen, dann rein ikterischen ergab sich die Aufgabe, im Serum nach Bilirubin zu suchen.

Patient stand damals nach dem Berichte des behandelnden Arztes unter dem Bilde des hämolytischen Ikterus. Der mit den bisher geübten direkten Methoden, u. a. auch mit der von Ehrlich und Pröscher[1]) in der von Hymans van den Berg

---

[1]) Pröscher, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 411, 1900.

und Snapper[1]) wiedergegebenen Form des Bilirubinnachweises gelang ein positiver Befund vom 6. Tage an, maximal am 8., um später allmählich abzuklingen und erst gegen Ende des Monats völlig zu verschwinden. Zwischen dem 6. und 10. Tage wurde Urobilin in größerer Menge nachgewiesen. Nachdem mit der Methode von Syllaba[2]) keine guten Ergebnisse erzielt werden konnten, wurde diese durch die Alkoholbehandlung des Serums nach Steensma[3]) bei anschließender Trennung durch ammoniakalisches Zinkacetat, selbstverständlich in kleinen Mengen, durchgeführt. Auch während des späteren Verlaufes bis zur Entlassung am 18. VI. als „geheilt“, wurde hin und wieder das Serum auf Farbstoffe und Chromogene chemisch und spektroskopisch untersucht, ohne daß sich Befunde irgendwelcher Art erheben ließen. Für die Bewertung der mitgeteilten Ergebnisse ist nachzutragen, daß vom 12. II. des gleichen Jahres, somit einige Tage vor dem Selbstmordversuch, eine Blutuntersuchung des Patienten ohne irgendeinen Anhalt auf pathologische Befunde der geschilderten Art vorliegt.

Besprechung der Befunde.

Der gegenwärtige Stand unserer Kenntnis von den Wirkungen der chlorsauren Salze auf den Blutfarbstoff ist in Handbüchern und Publikationen, mit Einschluß der Arbeit von Bornstein und Müller, festgelegt in dem Sinne, daß Hämatin nicht nachgewiesen werden konnte. Es gilt dies von Versuchen in vivo, während in der älteren umfassenden Monographie von Merings[4]) sich bei Untersuchungen am überlebenden Blute die Angabe findet, „daß durch längere und energische Einwirkung von chlorsaurem Kali auf Blut auch Hämatin gebildet werde“. Doch ergibt sich schon aus der Zahl der vielfach variierten Versuche und ihrer spektroskopischen Blutbefunde, daß der Autor dieser Wirkung, die den Endpunkt der damals

---

[1]) Hymans van den Berg und Snapper, Berl. klin. Wochenschr. 1914, Nr. 24 und 25.

[2]) Syllaba, zit. nach E. Grawitz: Methodik der klin. Blutuntersuchungen.

[3]) Steensma, Zentralbl. der ges. Physiol. u. Pathol. des Stoffwechsels 8, 1908.

[4]) von Mering, Das chlorsaure Kali usw.

ermittelten Farbstoffzerstörung angibt, nur spezielle, keine allgemeine Gültigkeit zuerkennt im zeitlichen wie quantitativen Sinne. Die Unglücksfälle, Medizinalvergiftungen und kriminellen Anlässe, deren Zusammenstellung ebendort schon ein beträchtliches Material ergibt, später bei Erben fortgesetzt, endlich alle tierexperimentellen Arbeiten haben bisher das Auftreten von Hämatin in extremen wie leichten Fällen vermissen lassen. Dies ist auch das Ergebnis der speziellen Bemühungen von Bornstein und Müller nach dieser Richtung in der zitierten, theoretisch und praktisch umfangreichen Untersuchung geblieben.

Sonach war es der oben wiedergegebene, fortgesetzte, zudem zeitlich verfolgte Hämatinnachweis, der in Verbindung mit den älteren tierexperimentellen Tatsachen zu einer Wiederholung pharmakologisch gleichwohl einfach angelegter, spektroskopisch (physikalisch und chemisch) jedoch möglichst präzis durchgeführter Versuche in vivo drängte.

Im Anschluß an die letztgenannte Arbeit wird unterschieden zwischen schwerer letaler, „das Leben unmittelbar bedrohender“, und leichter Vergiftung mit unkompliziertem Ablauf der Erholung. Der ersten gehört unser klinischer Fall an mit seinen zunächst sehr schweren akuten Schädigungen, deren Beschreibung in allen Einzelheiten sich mit den extremsten der Literatur deckt[1]). Es wurde Austritt des zersetzten Blutfarbstoffs aus den Erythrocyten und Anhäufung scholliger Pigmentmassen festgestellt, die auch in Alkalien und Salzlösungen unlöslich waren. Wie weit die Umwandlung des Hämochroms zu gehen vermag, wissen wir von Dennig[2]) und u. a. aus der zitierten Experimentalarbeit, die bei 70% Methämoglobin den Exitus für nahezu unvermeidbar hält bei nur 3 bis 4% Sauerstoff im arteriellen Blute; selbst bei einem Absinken der Sauerstoffbindung auf 0 haben sich Tiere noch längere Zeit atmend erhalten. Es ist hier ferner der Grenze der Nachweisbarkeit des Methämoglobins in Vollblut zu gedenken, bezogen auf den Rotstreifen, die von Haldane[3]) bei Nitritintoxikation von

[1]) Schädel, Untersuchung über Kaliumchloratvergiftung. Hambg. Ärzte-Korresp. Demonstration 1914, Nr. 21, 152.

[2]) Dennig, Arch. f. klin. Med. 65, 1900.

[3]) Haldane, Journ. of Physiol. 21, 187, 1887.

Mäusen auf 30%, von Bornstein und Müller bei Chlorat mit „einiger Sicherheit erst auf 40%“, jedenfalls auf über 30%, von Heubner[1]) mit Dennig im äußersten Extrem — „kaum angedeutet“, auf 15% Methämoglobin angegeben wird. Überträgt man den Nachweis vom Vollblut auf das zugehörige Serum, so fällt zwar die Möglichkeit fort, in dem verdünnten Blute angenähert den Teilungskoeffizienten zwischen unzersetztem und zersetztem Blute zu beobachten, doch tauscht man dafür den Vorteil ein, zunächst ohne Wasserzusatz beobachten zu können. Hier spielt die offenbare Tatsache eine Rolle, daß veränderter bzw. abgebauter Farbstoff aus den Körperchen sich im Serum anreichert. Für diesen Fall, sei es nun, daß es sich primär um Oxyhämoglobin oder später um Methämoglobin bzw. Hämatin handele, kann die Vorstellung von der „anhepatischen“ Gallenfarbstoffbildung nach v. d. Berg und Snapper aufklärend verfolgt werden, weshalb wir diesbezügliche Untersuchungen bei der gegebenen Vergiftung anstellten. Doch soll auch nicht der Hinweis vergessen werden, daß I. A. Menzies die Möglichkeit der Rückverwandlung des Hämatins unter synthetischer Vereinigung mit Globin zum echten Oxyhämoglobin experimentell verfolgt hat[2]). Es bleibt endlich noch einer Hypothese zu gedenken, daß der den Körperchen entzogene — mit diesen gemeinsam oder auch später — toxisch veränderte Farbstoff als „nicht plasmaeigen“ auf dem Wege spezifischen Fermentabbaus vernichtet werden könnte, ein Gedankengang, dem die Bilirubinbildung auf „anhepatischem“ Wege angehört, und der ja auch für extravasiertes Blut in Berührung mit den benachbarten Geweben von den holländischen Forschern angesprochen worden ist.

Experimentelle Chloratvergiftung.

Nimmt man den in vitro gemachten Befund einer Hämatinbildung als Ausdruck länger dauernder und intensiverer Giftwirkung an, so werden Versuche bei hohen Gaben und stark herabgesetzten Körperfunktionen, mithin verzögerter Elimination aus Blut und Säften die günstigsten Bedingungen stellen wegen

[1]) Heubner, Studien über Methämoglobinbildung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 72, H. 4, 1913.

[2]) Menzies, Hämatin. Chem. Centralbl. 2, Nr. 22, 1105, 1915.

des Weiterwirkens des Chlorates an dem bereits ausgetretenen oder schollig abgelagerten Farbstoff. Etwas anders müssen sich mäßige Wirkungen äußern, bei denen es zur Bildung geringer Methämoglobinmengen evtl. noch in den Erythrocyten bzw. zur mäßigen Hämolyse kommt.

Da nun andererseits die Spektroskopie des Serums nicht die Vorbedingungen und die Bestimmungsmethodik des Hämatins einstweilen nicht den Charakter eines objektiv quantitativen Verfahrens in sich schließen, so ist von mir zunächst nur Wert auf möglichst sorgfältigen qualitativen Nachweis bei relativer Schätzung der Mengen gelegt worden.

Die nächstfolgenden Versuche hatten die Aufgabe, mit tunlichst großen Mengen letale Vergiftungen kürzester Ablaufszeit zu erzeugen. Sie mußten sonach den extremen Fällen der Literatur, damit dem vorliegend beschriebenen, entsprechen, der ja ohne die entsprechenden therapeutischen Bemühungen sicher dem Tode verfallen gewesen wäre.

Katzen wurde Natriumchlorat durch Magensonde direkt in den Magen gebracht.

Es kamen in 8 Versuchen Mengen von 5 bis 10 g des Salzes, pro 1 kg Tier nüchtern oder nach kurzer Fleischfütterung, im Anschluß an Milchgabe, an vorgängige Verabreichung von ca. 20 ccm $^{n}/_{20}$-Salzsäure mit der Magensonde in zumeist ziemlich konzentrierter Form in Anwendung. Die Tiere lebten dann noch 2 bis 10 Stunden, während deren Wasser bzw. Milch gelegentlich gereicht wurde.

Etwa 6 Stunden vor der Vergiftung wurde eine, zumeist übrigens gut vertragene, Entnahme von höchstens 5,0 bis 10,0 ccm Blut gemacht; im Serum war in allen Fällen Methämoglobin, Hämatin und Bilirubin nicht nachweisbar. 2 Stunden nach Einführung des Giftes wurde ausnahmslos zunächst wieder die gleiche Menge Blut entnommen und im zentrifugierten Zustande untersucht. Bei dem nunmehr in weiteren Abständen nach mehr oder minder schnell verlaufender Intoxikation, für die gelegentliches Ausbrechen des Mageninhaltes von Einfluß war, erfolgten Tode wurden größere Mengen Vollblut und Serum eingehend auf Methämoglobin und Hämatin sowie auf Gallenfarbstoff untersucht. Die in dieser Frist schnell zum Tode führenden Fälle hatten unter den bekannten Allgemeinerscheinungen

gemeinsam die schwärzlich-schiefergraue Verfärbung des Vollblutes mit bläulich-bräunlichem Schein, im Vollblut reichlich Methämoglobin, im Serum mäßige Mengen Methämoglobin mit viel Hämatin, sowie massenhaft schollige Pigmentansammlungen außerhalb der Körperchen, Zerfall der zelligen Elemente, endlich keinen nachweisbaren Gallenfarbstoff.

Ein längerer Verlauf, der sich über 10 bis 24 Stunden erstreckte, näherte sich diesem Zustande stark, doch kamen bereits zwei ziemlich getrennte Bilder zum Vorschein, indem in einigen Fällen, und zwar nicht immer proportional der Zeit, die Pigmentanhäufungen außerhalb der Erythrocyten sehr spärlich waren. Auch hatte das Vollblut fast durchweg bei diesen Formen eine bräunlichere Färbung. Die 2 stündigen Blutentnahmen entsprechen hinsichtlich der Befunde denen der ersten Reihe, mit reichlich Methämoglobin im Vollblut und zunächst nur mäßig Hämatin im Serum. 6 bzw. 12 Stunden später und beim Exitus fehlte Methämoglobin im Vollblut nie, war verhältnismäßig reichlicher als in der vorstehenden Unterabteilung im Serum, Hämatin immer nahezu gleichbleibend, bei gelegentlich deutlicher Bilirubinreaktion. Die Abweichungen hinsichtlich des zeitlichen Ablaufes entstammen, was hierfür von Bedeutung, zum größten Teile den unvermeidlichen Versuchsfehlern, besonders dem Giftverlust der Tiere durch gelegentliches Brechen und Diarrhöen.

Ferner wurde mit geringeren, zunächst um 5 bis 2 g pro 1 kg Tier liegenden Mengen eine in ihren Folgen erheblich verzögerte Intoxikation erzielt, die nicht immer unmittelbar das Leben bedrohend war und in zu günstigen Lagen durch weitere, geringere Giftgaben in ihrem Zwecke aufrecht erhalten wurde. Die 2 stündige Blutentnahme bot hier neben Methämoglobin (nicht regelmäßig) bereits Oxyhämoglobin im Serum, doch stets mit Hämatin, 8 + bis 4 +, vergesellschaftet. Eine nach 24 Stunden bewirkte Blutentnahme ergab fast nie Pigment außerhalb der Körperchen, bei regelmäßig nur geringer Cyanose, bräunlich-rote und rote, nicht blau-schwärzlich schiefergraue Schleimhäute und Blutfarbe, trotzdem stets Hämatin 10 + bis 2 + neben Oxyhämoglobin und nur wenig Methämoglobin im Serum. 4 von 12 Tieren kamen überhaupt durch und zeigten dann später neben Oxyhämoglobin auch Hämatin im Serum,

was durch Untersuchung in mehrtägiger Frist auf 8 bis 10 Tage verfolgt werden konnte. Beim Abklingen der Intoxikation trat dann, zumeist noch neben der Anwesenheit von Hämatin, Bilirubin auf, das sich zumeist längere Zeit als vermehrt verfolgen ließ.

Endlich wurden einige Experimente (4) in Anlehnung an Bornstein und Müller durchgeführt. Eines davon entspricht nahezu dem dort unter Nr. III beschriebenen. Gewicht 2920 g, Gabe 2 × 25 g $MgClO_3$ in 90 ccm. Deutlicher Rotstreifen im Vollblut nach 2 Stunden, verstärkt nach 10 Stunden, noch vorhanden nach 22 Stunden. Im Serum Hämatin von Ht 20 + steigend auf Ht 30 +, gleichbleibend bis zur Tötung nach 26 Stunden, mäßige Menge Methämoglobin, das sich als echtes erwies.

Außerdem wurde versucht, bei Hunden, die ja an sich weniger zu den Experimenten vorliegender Richtung geeignet sind (Falck[1]), geringe Intoxikationen zu erzielen. Bei mehreren Tieren gelang es, durch wiederholte Gaben zwischen 2 und 3 g pro 1 kg Tier in Kombination mit spärlicher Fleischfütterung dauernd mäßige Mengen Oxyhämoglobin, hin und wieder Spuren Methämoglobin, dagegen fast ausnahmslos Hämatin von Ht 8 bis Ht 2 im Serum zu beobachten. Hierüber habe ich u. a. einen Befund, da unser Apparat vorübergehend zur Reparatur geschickt war, Herrn Schumm zu verdanken, der mir über ein Tier, das jeden zweiten Tag 3,0 g des Salzes pro Kilogramm erhielt, unter dem 30. III. 1914 berichtete: „Mäßiger Betrag echtes Methämoglobin, mäßige Menge Oxyhämoglobin, 5 + bis 6 + Hämatin.“ Bei den Tieren dieser Gruppe ließ sich gleichfalls Bilirubin beim Übergange der Giftwirkung in die Heilung (Aufhören der Hämoglobinämie bzw. Hämatinämie) nachweisen.

Schließlich sollte versucht werden, in langfristigem Verlaufe mit geringsten Mengen, 0,5 g tageweise wechselnd mit 1,0 g Natriumchlorat (in Hackfleisch verabreicht) — Erscheinungen zu erzeugen. Tatsächlich ließ sich in ca. 5 bis 6 Versuchen, schwankend und aussetzend Methämoglobin selten (ca. 5 % der in 3tägigen Fristen gemachten Beobachtungen), Oxyhämoglobin öfter (33 %), desgleichen Hämatin (in über 40 %) nachweisen

[1]) Falck, zit. nach Kobert bzw. Bornstein und Müller.

unter fast ständig positivem Bilirubinbefund während der späteren Wochen.

Zusammenfassung der spektroskopischen Befunde an Blut und Serum bei experimenteller Chloratvergiftung.

Es ist zu den vorstehend beschriebenen Versuchen ganz allgemein zu sagen, daß sie sehr zahlreich angestellt wurden, weil die beabsichtigte Form des Vergiftungsbildes nicht in allen Fällen erzielt wurde. Bei Darreichung per os kommen Unregelmäßigkeiten in Frage durch Diarrhöen, Brechen usw., so daß die verabreichte Gabe hinsichtlich ihrer Wirkung sich nicht immer einhalten ließ und mancher Versuch abgebrochen oder anderweitig verwertet werden mußte.

Das Ziel wurde andererseits auch nicht darin gesehen, mit genau bekannten Mengen etwa zur Ermittlung von Grenzwerten zu wirken, sondern bestimmt geäußerte Wirkungen zu erzeugen und diese zu studieren. Es wurden danach Vergiftungsbilder aus einzelnen Fällen zusammengestellt, die dem Schema von Kobert bzw. Bornstein und Müller entsprechen. Dabei ließ sich zeigen, daß an Katzen

bei akuter, schwerster letaler Intoxikation mit kurzem Ablauf von 2 bis 10 Stunden (Gruppe Ia),

bei akuter, das Leben bedrohender Intoxikation mit protrahierterem Verlauf von 10 bis 24 Stunden (Gruppe Ib),

ferner bei subakuter Intoxikation, die sich über einige Tage bis zu 2 Wochen hinzog (Gruppe II),

bei mäßiger Verabreichung (Gruppe III), ferner an Hunden

bei geringen, etwa der unteren Grenze nach Kobert entsprechenden chronischen Gaben, ohne daß irgend schwerere Erscheinungen eintraten (Gruppe IV)

Hämatin nachgewiesen werden konnte.

Über dessen Erscheinen im Zusammenhang mit dem Einsetzen der Vergiftung ist zu sagen, daß es bei Gruppe Ia schon in Blutproben der 2stündigen Entnahme in reichlicher, bei Gruppe Ib in mäßiger Menge auftrat, daß es bei Gruppe II in geringer Menge nicht fehlte und bei Gruppe III ab und zu nachweisbar war.

Hinsichtlich der Mengenverhältnisse im Vergleich zum mitentstandenen Methämoglobin scheint für alle geprüften Fälle

der Gruppe I und II die Auffassung berechtigt, daß viel Hämatin auch viel Methämoglobin entspricht, insofern, als eine starke Vergiftung schnelle und weitgehende Wirkungen zeitigt. Ob ein solcher Abbau energischer außerhalb oder innerhalb des Rahmens der Erythrocyten vor sich geht, steht noch zur Frage; wahrscheinlich ist aber aus biologischen Voraussetzungen das letztere auch für den ferneren Verlauf zu schließen. Dagegen ist wohl sicher, daß Hämatin ziemlich schnell gebildet wird, weshalb nicht unbedingt der Weg — Oxyhämoglobin — Methämoglobin — Hämatin — allein berechtigt erscheint, sondern auch dem einer direkten Spaltung Oxyhämoglobin — Hämatin einige Möglichkeit zugebilligt werden muß.

Dieser Abbau könnte bei geringgradigen Vergiftungen auch unter Verknüpfung mit dem Gedanken verfolgt werden, daß ein nach Aron[1]) und Bornstein denkbarer, evtl. wahrscheinlicher Gehalt normalen Blutes an Methämoglobin die Vorstufe für das zuerst entstehende oder bei leichten Vergiftungen neben Oxyhämoglobin auftretende Hämatin sei. Für die Beurteilung kommt weiter in Frage, daß in vergleichsweise schneller Abnahme das Methämoglobin zuerst aus dem Serum verschwindet, dann nach weit längerer Frist erst aus dem Vollblute. Diese Befunde werden durch eine Überlegung analytisch-methodischer Natur noch typischer und der Abstand zwischen dem Verschwinden des einen wie des andern Produktes noch größer, indem nämlich der Nachweis von Methämoglobin in Vollblut, wie oben an Hand der nächstliegenden Literatur besprochen, sehr begrenzt und keineswegs scharf, der im Serum jedoch ganz unverhältnismäßig feiner ist.

Wesentlich bleibt der Hämatinbefund aus dem Grunde, weil er allen Formen und Graden des Vergiftungsbildes durch Chlorate gemeinsam ist, der schwersten, letalen, der subakuten und der leichtesten bei geringen Gaben. Hämatin ist dabei auch das in der Dauer seines Vorkommens weit vorherrschende Zerfallprodukt des Oxyhämoglobins, nicht etwa nur nachträglich auftretend, sondern meist annähernd gleichzeitig mit dem Methämoglobin.

---

[1]) Aron, diese Zeitschr. 3, 13.

Nebenbefunde aus den Untersuchungen anläßlich des oben beschriebenen Vergiftungsfalles.

Der Hauptsache nach interessierten mich die spektroskopischen Fragen des medizinischen Falles, wie die der angeschlossenen tierexperimentellen Untersuchungen.

Die meisten übrigen Tatsachen sind im großen ganzen bereits festgelegt bei von Mering, doch sind von mir selbstverständlich die sich aufdrängenden Nebenbefunde erhoben worden. Dem genannten Autor verdanken wir auch die ersten methodischen, auf chemischen Nachweis gerichteten Arbeiten aus nahezu sämtlichen Detailfragen des Gebietes der Chloratvergiftung. Vervollkommnet wurde das Rüstzeug der betreffenden Methodik besonders durch das Verfahren von Bang und Larsson[1]) zur genauen Bestimmung von Chloriden in Blut und Serum wie auch im Harn. Das Verfahren kann selbstverständlich auch auf Isolierung und Nachweis der Chlorate mit ausgedehnt werden, wenn es mit der Reduktion durch Zink, besser Zink-Magnesium, bei geeigneter Weiterbehandlung verbunden wird.

Zunächst ist zu sagen, daß in ca. 6 l Magenspülwasser des ersten Eingriffes bei der Aufnahme 2,2 g Chlorat durch Eindampfen, Klären und Differentialtitration nachgewiesen werden konnten.

Im Blute aus der Menge des ersten Aderlasses, also ca. 14 Stunden nach der Vergiftung, wurden 0,35 g Chlorat per 100 ccm nachgewiesen.

Im Blute war, schließlich nur um ein Weniges oberhalb der Fehlergrenzen, der Chloratgehalt bis zum 5. Tage zu verfolgen, wobei die Larssonsche Bestimmungs-Methode mit 20 ccm Blut ausgeführt wurde. Am 3. Tage waren für 100 ccm Blut 0,18 g, am 5. Tage noch 0,03 g Chlorat nachweisbar.

Der Harn, fast stets sauer, enthielt wochenlang Blut und Blutfarbstoff, anfänglich nur Methämoglobin und Hämatin, erst spät Oxyhämoglobin. Die primäre Hämatinurie dauerte bis zum 10. Tage und setzte vorübergehend aus; später wurden noch häufig braun gefärbte Schollen im Sediment beobachtet. Da

---

[1]) Larsson, Bestimmung von Chlor in Blut und Serum. Diese Zeitschr. 1918, 488.

über die Beschaffenheit der Blutfarbstoffzerfallprodukte im Harn, nach Herkunft wie Zustand, nichts Endgültiges ausgesagt werden konnte wegen der breiten Möglichkeit sekundärer Umsetzungen, so wurde diesen Befunden naturgemäß weniger Arbeit gewidmet. Die Chloratausscheidung im Harn dauerte, zuletzt spurenweis verfolgbar, bis zum 7. Tage; es wurden 20,5 g aufgefunden, zu denen zwecks Ermittlung der tatsächlich gefaßten Gesamtmenge 2,2 g (Magenspülung) und 0,625 g (erster Aderlaß) hinzuzunehmen sind, so daß rund 23,33 g tatsächlich als ausgeschieden beobachtet wurden. Der seit von Merings Arbeiten noch immer nicht endgültig gelösten Frage nach der völligen Ausscheidung von Chloraten im Sinne von Rabuteau und Isambert bzw. der biologischen Reduktion bei längerem Verweilen im Organismus könnte unser extremer Fall eher in letztgenannter Richtung dienstbar gemacht werden.

Die Urinmengen, anfänglich meist weit unter 1000, stiegen vom 7. Tage an, um vom 20. ab wieder unter die Norm zu gehen. Das spezifische Gewicht fiel sofort und hielt sich meist um 1008, häufiger auf 1006, selbst 1004 sinkend.

Nierenbefunde wurden gleichfalls erhoben. U. a. stieg der Reststickstoff, nach der Eisenmethode im Vollblut bestimmt, von der ersten (Aderlaß-)Blutentnahme an mit 28 mg auf 40 mg am 10. Tage, auf 58 am 20. Tage und auf 42 nach 1 Monat, wurde nach 2 Monaten mit 32 mg per 100 ccm Blut wieder normal.

Die vorstehend mitgeteilten Nebenbefunde seien nur in aller Kürze beigefügt. Der behandelnde Arzt, Dr. Schaedel, hat sich aus Anlaß der interessanten Blutmikroskopie des Falles eine Mitteilung hierüber vorbehalten.

Schlußsätze.

Auch unabhängig von den bereits oben zusammengefaßten, speziell die Entstehung des Hämatins betreffenden Ergebnissen, st vom Standpunkte des praktischen Toxikologen aus der beschriebene Fall von Interesse. Lehrt er doch erneut und eindringlich, nachdem die medizinelle wie kriminelle Chloratintoxikation durch die einschlägigen Maßnahmen selten geworden und deshalb die bedeutende Gefährdung durch diese Salze dem Gesichtskreise der Praktiker etwas entrückt ist, daß sie zu den bedenklichsten gehört. Wenn es auch dank der sorgsamsten

und ausdauernden ärztlichen Bemühungen gelungen ist, den geschilderten, an sich durchaus hoffnungslosen Fall zu heilen, so sollte gerade diese Tatsache keine Unterschätzung der Giftwirkung, zunächst der Gabe nach, weiterhin aber auch hinsichtlich ihrer Schwere im Zusammenhang mit den (hier im einzelnen leider nicht analysierbaren) Nebenumständen im Gefolge haben.

Wenn man andrerseits noch die spektroskopischen Ergebnisse mit ins Auge faßt, so kann man bei einiger, besonders praktischer Kenntnis der experimentellen Chloratintoxikation nur eine Auffassung haben, nämlich die von Kobert in seinem klassischen Werke niedergelegte, die auch der Unterschätzung der Gefahren selbst kleiner Mengen entgegentritt.

Herrn cand. med. G. Goerne verdanke ich wertvolle Mithilfe besonders bei Ausführung der mitgeteilten Tierversuche. Deren vollständigere Ausnutzung zwecks Bearbeitung zahlreicher wichtiger Nebenfragen (Nierenschädigung, Ausscheidungsverhältnisse bei verschieden intensiven Intoxikationen, bei entsprechenden Medikationen usw.) mußte unter den gegebenen Verhältnissen vorerst unterbleiben.

Eine einfache Methode zur quantitativen Bestimmung sehr geringer Kaliummengen.

Von

H. J. Hamburger in Groningen.

(Eingegangen am 22. März 1916.)

Vor einiger Zeit beschrieb ich eine einfache Methode zur quantitativen Bestimmung sehr geringer Kaliummengen[1]). Ich benutzte dafür trichterförmige Röhrchen, deren kalibrierter Capillarteil 0,04 ccm enthalten sollte. Zu meinem großen Bedauern bin ich zufälligerweise zu der Entdeckung gelangt, daß dieser Raum mehr als 0,05 ccm entsprach. Der Inhalt war früher von uns mittels einer langen Capillarpipette, die wir jeden Grund hatten, als vollkommen richtig zu betrachten, kontrolliert, und es hatte sich herausgestellt, daß die Zahl 0,04 ccm der trichterförmigen Röhrchen mit der Zahl 0,04 der Capillarpipette genau übereinstimmte. Bei Quecksilberauswägung der beiden hat sich nun ergeben, daß sowohl Pipette wie Röhrchen falsch kalibriert waren, jedoch übrigens vollkommen übereinstimmten.

Wir werden hier den Namen des Lieferanten, der diesen Fehler gemacht hat, nicht nennen, sondern raten denjenigen, die unser Röhrchenmodell benutzten, aufs eindringlichste, die Verteilung mittels Quecksilberauswägung zu kontrollieren, was indessen nicht nötig ist, wenn sie von Herrn J. J. Boom bezogen werden[2]).

Versuche mit richtig kalibrierten Röhrchen haben gelehrt, daß 1 Verteilung = 0,0004 ccm nicht übereinstimmt mit 0,0001 g[3]), sondern mit 0,000074059 g Kalium.

---

[1]) Diese Zeitschr. 71, 416, 1915.

[2]) Diese Zeitschr. l. c. S. 450.

[3]) Vgl. S. 461.

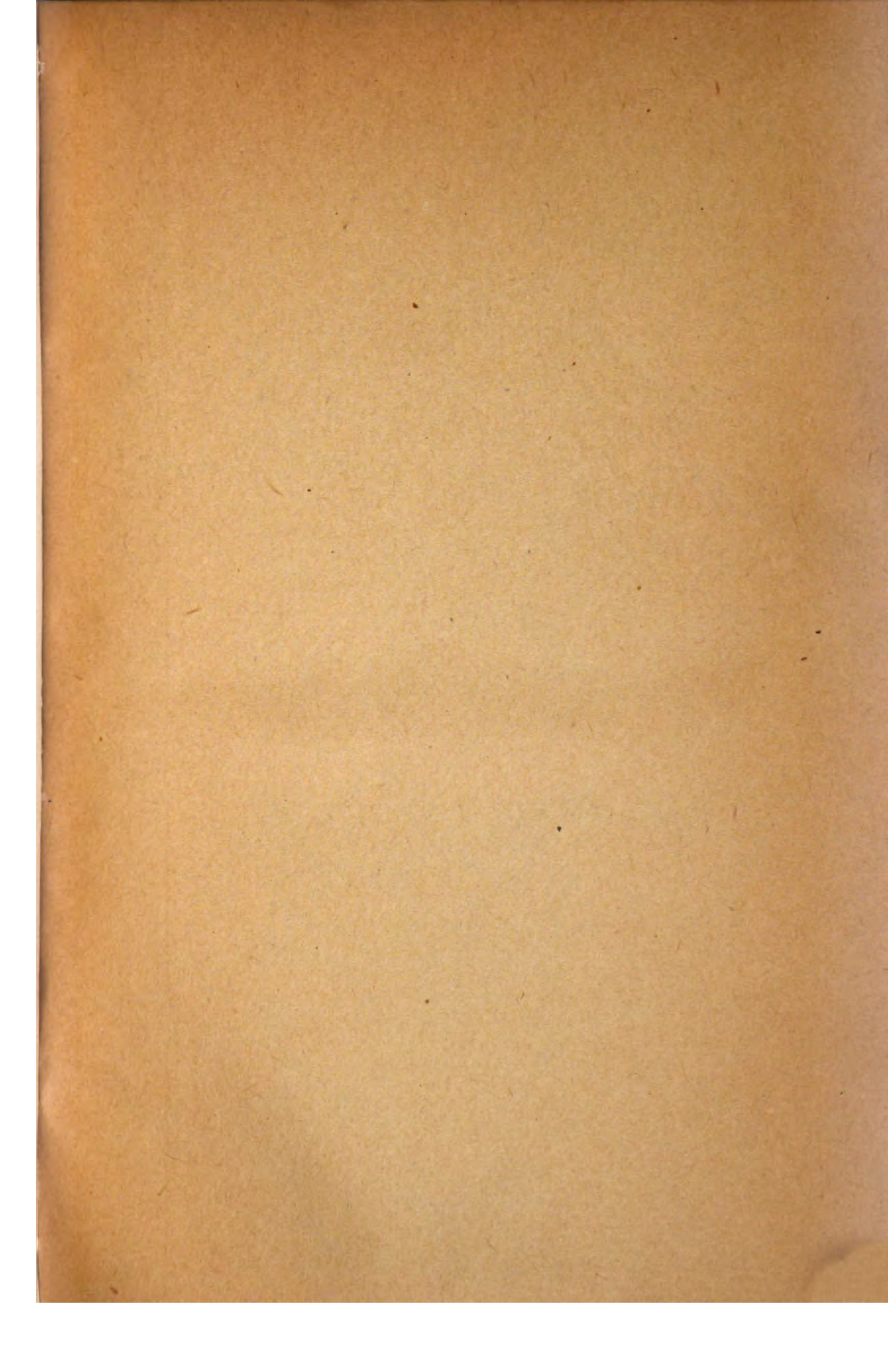
Diese Zahl ist das Mittlere aus 36 Versuchen. Diese bestanden darin, daß 5 ccm einer 0,28 %igen KCl-Lösung mit 1½ ccm der beschriebenen Kobaltlösung und 0,02 ccm 10 %iger Essigsäure (nicht mehr!) versetzt und in der früher beschriebenen Weise behandelt wurde. Nach Zentrifugierung in 36 der neuen richtigen Röhrchen ergaben sich die folgenden Zahlen: 99,4, 99,5, 99, 99,4, 99, 99,4, 99,4, 99,4, 99, 99, 99,4, 99, 99, 99, 98,9, 99, 99,4, 99, 99, 99, 99,2, 99,3, 99,2, 99, 99,4, 99, 99, 99,3, 99, 99, 99, 98,9, 99, 99,4, 98,9, 99. Mittelwert 99,15 Verteilungen. Aus dieser Zahl läßt sich berechnen, daß eine Verteilung Kobaltgelbes 0,000074059 g Kalium entspricht.

Da die in unserer vorigen Arbeit beschriebenen Untersuchungen alle mit Röhrchen ausgeführt wurden, denen derselbe Fehler anhaftete — sonst würden natürlich auch nicht solche schön übereinstimmende Resultate erhalten sein —, bleibt die Richtigkeit unserer Schlußfolgerungen unberührt.

Die vorliegenden Zeilen dienen also nur dazu, die Forscher auf die eventuell vorkommende Ungenauigkeit der Kalibrierung aufmerksam zu machen und auch zur Angabe der richtigen Kaliummenge, die mit 0,0004 ccm Kobaltgelb übereinstimmt.

Aus dem jetzigen Befunde geht hervor, daß unsere Methode noch eine größere Genauigkeit erlaubt als früher angegeben wurde. Stimmte ja nach der früheren Angabe 1 Verteilung = 0,0004 ccm mit 0,0001 g Kalium überein; wie gesagt, entspricht 0,04 ccm in Wahrheit 0,000074059 oder rund 0,000074 g Kalium.

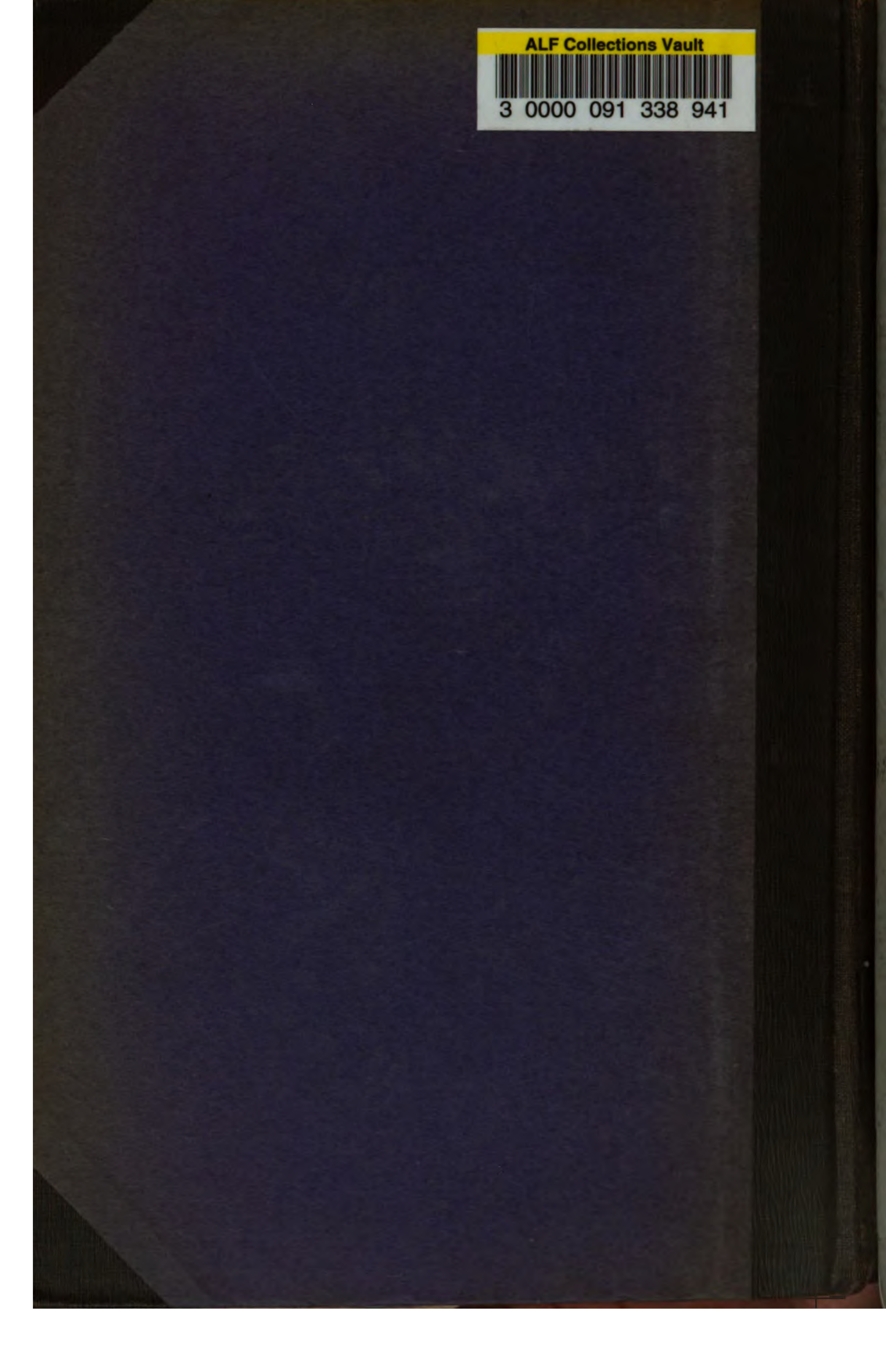
Autorenverzeichnis.










ALF Collections Vault
3 0000 091 338 941